VOL. 111 IULIE-SEPTEMBRIE 2007 ISSN: 0048-7848 Nr. 3

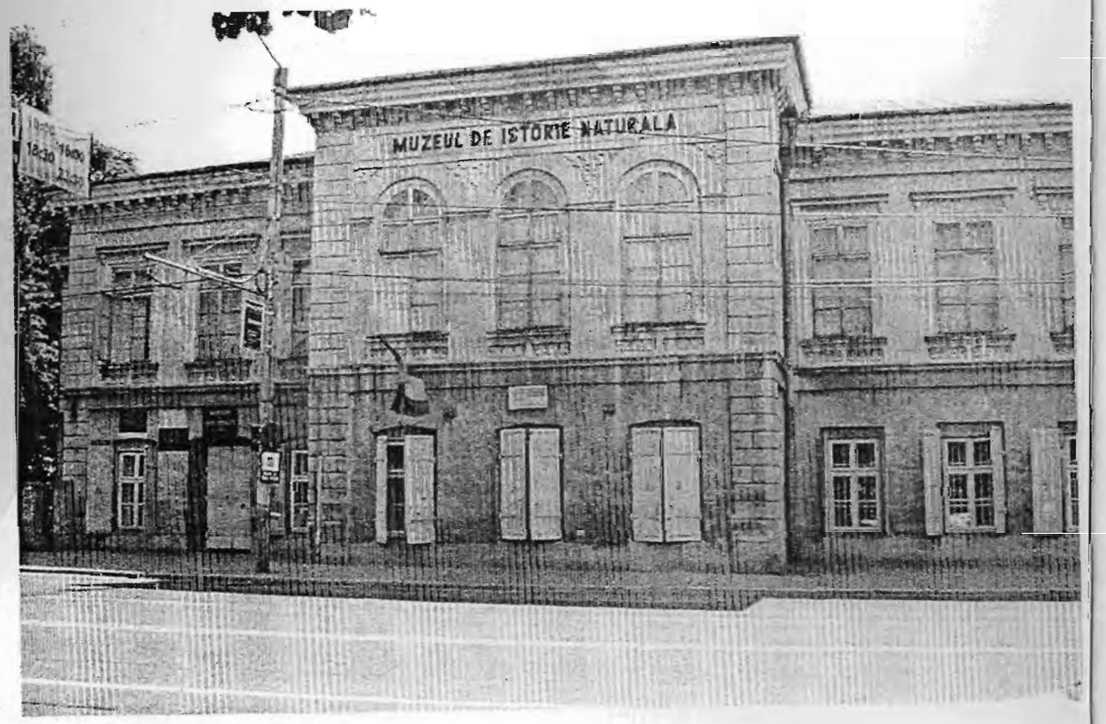
REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ

A SOCIETĂȚII DE MEDICI ȘI NATURALIȘTI DIN IAȘI

Revista este inclusă în INDEX MEDICUS și în MEDLINE

Dorim să stabilim schimburi cu alte publicaţii.
On désire établir l'échange avec d'autres publications.
We wish to establish exchange with other publications.
Wir wünschen mit anderen Herausgaben den Austausch einzurichten.
Desideriamo stabilire scambio con alte publicazioni.
Déseamos establecer intercambio con otras publicaciones.

Revista Medico-Chirurgicală a fost fondată în anul 1887, primul număr apărând în luna ianuarie.
Revista Medico-Chirurgicală was establish in 1887, the first issue come out in January.



Sediul Societății de Medici și Naturaliști Iași

COMITETUL
SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI IAŞI

PREŞEDINTE
CAROL STANCIU

VICEPREŞEDINŢI
CORNELIU DIACONU, NORINA CONSUELA FORNA,
GEORGE IOAN PANDELE, VALERIU RUSU, MIRCEA ZAMFIR

SECRETAR
CONSTANTIN IORDACHE

TREZORIER
AUREL IVAN

CENZORI
ELENA BUTNARU, GHEORGHE COSTĂCHESCU, ŞTEFAN LĂCĂTUŞU

PREŞEDINŢI DE ONOARE
IOAN HAULICĂ, GHEORGHE SCRIPCARU, ALLA VÂŢĂ

PREŞEDINŢII SECŢIILOR ŞI CERCURILOR

Secţii	Cercuri
Ovidiu Brumaru	Vasile Astărăstoae
Elena Butnaru	Eduard Bild
Gheorghe Costăchescu	Rodica Marieta Chiriac
Corneliu Diaconu	Vasile Chiriţă
Norina Consuela Forna	Dorin Chiseliţă
Anca Irina Galaction	Constantin Eremia Cotrutz
Viorica Gavăt	Dinu Cezar
Ioana Grigoraş	Eusebiu Vlad Gorduza
Traian Mihăescu	Jan Hurjui
Maria Sultana Mihailovici	Nicolae Ianovici
Doina Mihalache	Dan Mârţu
Gheorghe Vasile Moscaliuc	Ostin Costel Mungiu
Mihai Nechifor	Dragoş Negru
George Ioan Pandele	Zenaida Petrescu
Gheorghe Petrescu	Georgeta Sinitchi
Carol Stanciu	Felicia Ştefanache
Mircea Zamfir	Eusebie Zbranca

COLEGIUL DE REDACŢIE

Redactor şef
Valeriu RUSU

Redactori şefi adjuncţi
Doina AZOICĂI, Adrian COVIC, Norina Consuela FORNA, Gabriel UNGUREANU

Secretar de redacţie
Lucian Laurenţiu INDREI

Redactori
Secţiunea MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE
Mihaela MUNTEANU, Ioana Dana ALEXA,
Corina DIMA-COZMA, Simona MANEA, Camelia COJOCARIU
Secţiunea CHIRURGIE
Emil ANTON, Radu DĂNILĂ, Radu MOLDOVANU
Secţiunea ŞTIINŢE FUNDAMENTALE
Cipriana ŞTEFĂNESCU, Carmen Lăcrămioara ZAMFIR
Secţiunea MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR
Carmen PÂNZARU, Florin Dumitru PETRARIU
Secţiunea MEDICINĂ DENTARĂ
Irina-Draga CĂRUNTU, Gianina IOVAN, Irina GRĂDINARU
Secţiunea FARMACIE
Anca MIRON, Cristina Gabriela TUCHILUŞ
Secţiunea BIOINGINERIE
Alexandru Dan CIOCHINĂ, Gheorghe IACOB

Revista Medico-Chirurgicală (The Medical-Surgical Journal) is available in microform from University Microfilms International and is curently included in the major abstracting and indexing services.

*

Address for all authors:
REVISTA MEDICO-CHIRURGICALA
Society of Physicians and Naturalists
16, Independenţei Blvd.
P.O. Box 25
700098 Iaşi, 1, ROMANIA

Review copy books should be send only to the address above.

For reprint information in the United States contact:
International Reprint Corporation
986 Admiral Callaghan Lane 268
P.O. Box 12004 Vallejo, CA 94500
U.S.A.

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ
A „SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI" DIN IAŞI

REDACŢIA ŞI ADMINISTRAŢIA: IAŞI, BULEVARDUL INDEPENDENŢEI 16, 700098
Cont Banca Comercială Română filiala Iaşi RO72RNCB0175033604340001
Telefon 0232-216772; e-mail: rev_med_chir@yahoo.com

SUMAR

EDITORIAL

V. Rusu: Era imagisticii medicale (I) 565

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ACTUALITĂŢI

Anca Trifan, C. Stanciu: Computer-based Simulator for Training in Gastrointestinal Endoscopy 567

Cristina Cijevschi Prelipcean, Cătălina Mihai, P. Gogălniceanu, Dana Mitrică, V.L. Drug, C. Stanciu: Extragastric Manifestation of *Helicobacter pylori* Infection 575

Camelia Cojocaru, Anca Trifan, C. Stanciu: Hemocromatoza ereditară – boala cu feţe multiple 584

Larisa Mihai: Hipertensiunea arterială neonatală. Abordare diagnostică şi terapeutică 593

ARTICOLE ORIGINALE

Viviana Aursulesei, Georgeta Datcu, M.D. Datcu: Profilul disfuncţiei endoteliale în hipertensiunea arterială. Evaluare prin ecografie vasculară 601

Mihaela Grecu, Ramona Oana Olteanu, S.S. Olteanu, Cătălina Arsenescu-Georgescu: Eficienţa inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei în menţinerea ritmului sinusal post-conversie a fibrilaţie atriale 607

G. Malgarinos, A. Ghikas, Evi Delicha, J. Fouskas, F. Georgopoulos, A. Papadimitriou, C. Stanciu, J.K. Triantafilidis: Pregnancy and Inflammatory Bowel Disease: A Prospective Case-control Study 613

Maria Belovici, J. Ketelslegers, M. Buysschaert, G.I. Pandele, Valerie Coninck, A. Leblanc: Relantionship Between Osteopontin and Vascular Calcifications in Type 2 Diabetic Patients 620

V. Bejan, Doina Azoicăi, Elena Saviuc, Şt. Olteanu, Smaranda Miu, A. Ivan: Studiul factorilor de risc asociaţi cu osteoporoza pe două eşantioane de pacienţi investigaţi prin metoda osteodensitometriei ultrasonice 626

TEHNICI ŞI METODE

C. Grigoraş, T. Mihăescu: Metode neinvazive de evaluare a inflamaţiei în astmul bronşic 632

CAZURI CLINICE

Anca Hâncu: Crize epileptice parţiale continue într-un caz de sindrom paraneoplazic 638

CHIRURGIE

ACTUALITĂŢI

G. Iacob, Simona Iacob, Inimioara Cojocaru: Profilaxia cu antibiotice în neurochirurgie .. 643

Dana Turliuc, Gabriela Florenţa Dumitrescu, Anca Indrei: Colaborarea neurochirurg-neuropatolog în diagnosticarea tumorilor cerebrale 649

ARTICOLE ORIGINALE

R. Popa, Ioana Grigoraş, K. Zaib, A. Raza, Genoveva Baroi: Usage of Venous Grafts in Aorto-Iliac Reconstructive Surgery 658

N. Constantea, S. Crişan, V. Donca, Elena Buzdugan, T. Pop, Daciana Chirilă, Corina Căpâlneanu, F. Jianu, V. Dudric: Tratamentul laser intravenos (EVLT) în insuficienţa venei safene interne 664
S. Abushab, Şt. Buţureanu, C. Cotuţiu, Corina Flaişer: Corelaţii între aspectele ecografice ale hiperplaziilor endometriale şi rezultatele anatomo-patologice 669

CAZURI CLINICE

V. Scripcariu, Elena Dajbog, I. Radu, D. Ferariu, Adriana Pricop, M. Grigoraş, Cr. Dragomir: Tumorile maligne mezoteliale peritoneale - evoluţie, tratament, prognostic 673
M. Onofriescu, Maria Gavriluţ, G. Tinică, V. Diaconescu, Monica Holicov, E. Radu, Marie-Jeanne Aldea: disecţie acută de aortă postcezariană la o lehuză cu sindrom Marfan. Caz clinic 678
N. Cernea, Ştefania Tudorache, Liliana Novac, Fl. Cornițescu, E. Coletă, Daniela Cernea: Restricţia de creştere intrauterină: o entitate patologică pentru care există soluţie medicală 683

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE

ARTICOLE ORIGINALE

Anca Munteanu, Fl. Munteanu, E. Bild: Hipertermia superficială cu microunde - parametri fizici de tratament determinaţi pe fantom experimental 691
Ionela Lăcrămioara Şerban, D.N. Şerban, I. Haulică: Relaxing Effects of Adrenomedullin in Rat Mesenteric Resistance Arteries 696
Carmen Cozmei, Daniela Constantinescu, E. Carasevici, Ecaterina Anisie, Didona Ungureanu, Adriana Sorete-Arbore, Doina Grămadă, Tr. Mihăescu, Carmen Croitoru, Doina Popa: TH12 and TH2 Cytokine Response in Patients with Pulmonary Tuberculosis and Health Care Workers Occupationally exposed to *M. tuberculosis* 702
M. Lambropoulou, D. Tamiolakis, I. Venizelos, G. Alexiadis, V. Limberis, G. Galazios, P. Tsikouras, D. Karamanidis, G. Koutsougeras, S. Nikolaidou, G. Petrakis, H. Papadopoulos, N. Papadopoulos: A Stromal Myoid Cell Line Provokes Thymic T-Cell Immigration at the Second and Third Gestational Trimesters 710
Dana Luiza Cernucan, B. Gurzu, S. Slătineanu, Irina Luciana Dumitriu, Simona Mihaela Slătineanu, M. Costuleanu, Gh. Petrescu: Contractile Effects of Angiotensinogen and Its Multiple Metabolization Pathways on Vessels Walls 717
Florica Popescu, F.D. Popescu, Maria Iancău, D. Georgescu: Potenţiale evocate vizual în evaluarea profilului de siguranţă al levocetirezinei 722
R. Pandeli: Cuantificarea parametrilor celulari în aprecierea prognosticului carcinomului scuamos de col uterin 729
Manuela Stancu, Irina Draga Căruntu, Maria Sajin, Simona Giuşcă, Adriana Bădescu, Gioconda Dobrescu: Immunohistochemical Markers in the Study of Gallblader Premalignant Lesions an Cancer 734
M.D. Scutariu, Corina Ciupilan: Efectele comparative ale nichelului şi magneziului asupra rinichiului de şobolan tratat experimental cu acid retinoic 744

MEDICINĂ DENTARĂ

ACTUALITĂŢI

Liliana Foia, Vasilica Toma, Didona Ungureanu, Carmen Aanei, M. Costuleanu: Binomul diabet zaharat - boală parodontală. Factori etiologici şi de risc 748

ARTICOLE ORIGINALE

Daniela Trandafir, D. Gogălniceanu, Violeta Trandafir, Irina Fraga Căruntu: Lipoamele cavităţii orale 754
V. Costan, D. Gogălniceanu, M. Borcea: Valoarea lambourilor fasciocutanate temporo-parietale în reconstrucţia defectelor cutanate din teritoriul OMF 759
Mihaela-Monica Scutariu, Corina Păcurariu, Maria Ursache: Studiu privind aprecierea relaţiei între calitatea vieţii şi sănătatea orală, utilizând autoevaluarea globală, la un lot de vârstnici 763

FARMACIE

ARTICOLE ORIGINALE

M. Mareş, Alina Ştefanache, Iuliana Popovici, V. Valica, D. Buiuc: Evaluarea efectului antifungic al unui nou derivat de propiconazol faţă de 64 tulpini levurice isolate din micoze vaginale 768
Otilia Pintilie, V. Şunel, Lenuţa Profire, A. Pui: Sinteza şi activitatea antimicrobiană a unor (sulfon-amidofenil)-amide ale N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metioninei 773

TEHNICI ŞI METODE

Nela Bibire, L. Christopoulos, M. Apostu, V. Dorneanu: Determinarea spectrofotometrică în vizibil a adrenalinei 779

ISTORIA MEDICINEI

V. Feier, D. Teodorescu Brînzeu, Loriana Feier: Relaţiile medicale moldavo-bănăţene în secolele XIX şi XX 783

Noutăţi: 574, 583, 592, 600, 612, 619, 625, 631, 642, 648, 663, 668, 672, 682, 690, 695, 716, 721, 728, 733, 743, 753, 758, 772, 778, 788

CONTENTS

EDITORIAL

V. Rusu: Medical Imaging Era (I) 565

INTERNAL MEDICINE - PEDIATRICS

UPDATES

Anca Trifan, C. Stanciu: Computer-based Simulator for Training in Gastrointestinal Endoscopy 567

Cristina Cijevschi Prelipcean, Cătălina Mihai, P. Gogălniceanu, Dana Mitrică, V.L. Drug, C. Stanciu: Extragastric Manifestation of *Helicobacter pylori* Infection 575

Camelia Cojocaru, Anca Trifan, C. Stanciu: Hereditary Hemochromatosis 584

Larisa Mihai: Neonatal Hypertension. Diagnostic and Therapeutical Approach 593

ORIGINAL PAPERS

Viviana Aursulesei, Georgeta Datcu, M.D. Datcu: Profile of Endothelial Dysfunction in Arterial Hypertension. Vascular Ultrasound Assessment 601

Mihaela Grecu, Ramona Oana Olteanu, S.S. Olteanu, Cătălina Arsenescu-Georgescu: Efficiency of Angiotensin/converting Enzyme Inhibitors in the Maintanace of the Sinusal Rythm After Conversion of Atrial Fibrilation 607

G. Malgarinos, A. Ghikas, Evi Delicha, J. Fouskas, F. Georgopoulos, A. Papadimitriou, C. Stanciu, J.K. Triantafilidis: Pregnancy and Inflammatory Bowel Disease: A Prospective Case-control Study 613

Maria Belovici, J. Ketelslegers, M. Buysschaert, G.I. Pandele, Valerie Coninck, A. Leblanc: Relantionship Between Osteopontin and Vascular Calcifications in Type 2 Diabetic Patients 620

V. Bejan, Doina Azoicăi, Elena Saviuc, Şt. Olteanu, Smaranda Miu, A. Ivan: Research on Risk Factors Associated with Osteoporosis on Two Samples of Patients Investigated Using Ultrasonic Osteodensitometry 626

TECHNIQUES AND METHODS

C. Grigoraş, T. Mihăescu: Noninvasive Methods of the Inflammation Assessment in Bronchial Asthma 632

CASE REPORTS

Anca Hâncu: Paraneoplastic Syndrome Presented as Epilepsia Partialis Continua 638

SURGERY

UPDATES

G. Iacob, Simona Iacob, Inimioara Cojocaru: Prophylactic Antibiotic in Neurosurgery .. 643

Dana Turliuc, Gabriela Florenţa Dumitrescu, Anca Indrei: Neurosurgeon-Neuropathologist Collaboration in Cerebral Tumors Diagnosis 649

ORIGINAL PAPERS

R. Popa, Ioana Grigoraş, K. Zaib, A. Raza, Genoveva Baroi: Usage of Venous Grafts in Aorto-Iliac Reconstructive Surgery 658

N. Constantea, S. Crişan, V. Donca, Elena Buzdugan, T. Pop, Daciana Chirilă, Corina Căpâlneanu, F. Jianu, V. Dudric: Endovenous Laser Treatment (EVLT) for Treatment of Great Saphenous Vein Insufficiency 664

S. Abushab, Şt. Buţureanu, C. Cotuţiu, Corina Flaişer: Corelations Between the Ultrasound Aspects of Endometrial Hyperplasias and the Pathological Exam 669

CASE REPORTS

V. Scripcariu, Elena Dajbog, I. Radu, D. Ferariu, Adriana Pricop, M. Grigoraş, Cr. Dragomir: Malignant Peritoneal Mesothelioma Tumors. Evolution, Treatment, Prognosis 673

M. Onofriescu, Maria Gavriluţ, G. Tinică, V. Diaconescu, Monica Holicov, E. Radu, Marie-Jeanne Aldea: Postcesarian Acute Aortic Dissection in a Marfan Syndrome Patient 678

N. Cernea, Ştefania Tudorache, Liliana Novac, Fl. Cornițescu, E. Coletă, Daniela Cernea: Intrauterine Growth Restriction: A Pathology for Which There Is a Medical Solution 683

BASIC SCIENCES

ORIGINAL PAPERS

Anca Munteanu, Fl. Munteanu, E. Bild: Superficial Microwaves Hyperthermia - Physical Treatment Parameters Obtained on Experimental Phantom 691

Ionela Lăcrămioara Şerban, D.N. Şerban, I. Haulică: Relaxing Effects of Adrenomedullin in Rat Mesenteric Resistance Arteries 696

Carmen Cozmei, Daniela Constantinescu, E. Carasevici, Ecaterina Anisie, Didona Ungureanu, Adriana Sorete-Arbore, Doina Grămadă, Tr. Mihăescu, Carmen Croitoru, Doina Popa: T_h1 and Th2 Cytokine Response in Patients with Pulmonary Tuberculosis and Health Care Workers Occupationally Exposed to *M. tuberculosis* 702

M. Lambropoulou, D. Tamiolakis, I. Venizelos, G. Alexiadis, V. Limberis, G. Galazios, P. Tsikouras, D. Karamanidis, G. Koutsougeras, S. Nikolaidou, G. Petrakis, H. Papadopoulos, N. Papadopoulos: A Stromal Myoid Cell Line Provokes Thymic T-Cell Immigration at the Second and Third Gestational Trimesters 710

Dana Luiza Cernucan, B. Gurzu, S. Slătineanu, Irina Luciana Dumitriu, Simona Mihaela Slătineanu, M. Costuleanu, Gh. Petrescu: Contractile Effects of Angiotensinogen and Its Multiple Metabolization Pathways on Vessels Walls 717

Florica Popescu, F.D. Popescu, Maria Iancău, D. Georgescu: Visual Evoked Potentials in the Evaluation of the Safety Profile of Levocetirizine 722

R. Pandeli: Cellular Parameters Quantification in Prognosis Assessment of Cervical Squamous Cell Carcinoma 729

Manuela Stancu, Irina Draga Căruntu, Maria Sajin, Simona Giuşcă, Adriana Bădescu, Gioconda Dobrescu: Immunohistochemical Markers in the Study of Gallblader Premalignant Lesions and Cancer 734

M.D. Scutariu, Corina Ciupilan: Nickel and Magnesium Effects on Retinoic Acid Experimentaly Treated Rat Kidney 744

DENTAL MEDICINE

UPDATES

Liliana Foia, Vasilica Toma, Didona Ungureanu, Carmen Aanei, M. Costuleanu: Binominal Relationship Diabetes Mellitus-Periodontal Disease. Ethiological and Risk Factors 748

ORIGINAL PAPERS

Daniela Trandafir, D. Gogălniceanu, Violeta Trandafir, Irina Fraga Căruntu: Lipomas of the Oral Cavity. A Retrospective Study 754

V. Costan, D. Gogălniceanu, M. Borcea: The Value of Temporoparietal Fasciocutaneous Flaps in reconstruction of the OMF Territory Cutaneous Deffect 759

Mihaela-Monica Scutariu, Corina Păcurariu, Maria Ursache: Life Quality and Oral Health Relationship Assessment Using Global Autoevaluation in a Group of Elderly Patients 763

PHARMACY

ORIGINAL PAPERS

M. Mareş, Alina Ştefanache, Iuliana Popovici, V. Valica, D. Buiuc: Evaluation of the Antifungal Effect of a New Propiconazole Derivative Against 64 Yeast Strains Isolated from Vaginal Mycosis 768

Otilia Pintilie, V. Şunel, Lenuţa Profire, A. Pui: Synthesis and Antimicrobial Activity of Some New (Sulfon-Amidophenyl)-Amide Derivatives of N-(m-Nitrobenzoil)-D,L-Methionine 773

TECHNIQUES AND METHODS

Nela Bibire, L. Christopoulos, M. Apostu, V. Dorneanu: Quantitative Determination of Adrenaline by Visible Spectrophotometric Method 779

ISTORIA MEDICINEI

V. Feier, D. Teodorescu Brînzeu, Loriana Feier: Medical Relationship Between Moldavia and Banat in the 19th and the 20th Centuries 783

News: 574, 583, 592, 600, 612, 619, 625, 631, 642, 648, 663, 668, 672, 682, 690, 695, 716, 721, 728, 733, 743, 753, 758, 772, 778, 788

EDITORIAL

ERA IMAGISTICII MEDICALE (I)

În prezent este greu de găsit în medicină un domeniu de un interes mai larg decât cel al *imagisticii medicale*, în engl. *medical imaging*, iar în franc. *imagerie médicale*. De menţioant că forma *imagerie medicală* preluată din franceză, nu este recomandată în română.

Menţionăm, mai întâi, că în acest editorial ne-am propus să ne referim la o serie de aspecte generale ale domeniului. Deoarece editorialele sunt printre cele mai citite articole, ar fi util ca unele comentarii să ajungă, eventual prin email, la revistă, iar în cazul cel mai fericit o sinteză a observaţiilor să apară la această rubrică.

Înainte de a intra efectiv în subiect, să observăm că societatea, lumea întreagă este dominată de *era imaginii*, care ar fi început încă de la mijlocul secolului trecut. Semnificaţia, conţinutul, modurile de expresie şi consecinţele acestei noi ere nu au mai nimic în comun cu era imagisticii medicale. Inclusiv din punct de vedere tehnic deosebirile sunt esenţiale, în cazul *erei imaginii* suportul fiind îndeosebi televiziunea şi Internetul. Încă şi mai deosebite sunt consecinţele, unii autori (mai pasionaţi) susţinând, de exemplu, riscul unei *„imbecilizări prin televiziune"*. De fapt, realitatea este ceva mai nuanţată şi fără să ajungem la ceea ce în prezent se numeşte filosofia imaginii, îl vom cita pe *Giovani Sartori*, autor al cărţii *„Homo Videns". Televisione e post-pensiero"*, Editori Laterza, 1997 (carte tradusă şi în română, apărută la Editura HUMANITAS în 2005, dar cu un subtitlu cam neinspirat adăugat de editorul român: *Homo Videns. Imbecilizarea prin televiziune şi post-gândirea*): *„Oricare ar fi evoluţiile viitoare ale video-vederii, televiziunea e cea care modifică mai întâi, şi încă într-un mod fundamental, însăşi natura comunicării, mutând-o din contextul cuvântului (fie el tipărit sau radiodifuzat) în contextul imaginii. Diferenţa este radicală. Cuvântul este un „simbol" rezolvat pe de-a-întregul în ceea ce semnifică, în ceea ce te face să înţelegi. Iar cuvântul te face să înţelegi doar dacă e înţeles, adică dacă cunoşti limba căreia îi aparţine; altminteri e literă moartă, un semn şi un sunet oarecare. Dimpotrivă, imaginea este pur şi simplu reprezentare vizuală. Imaginea se vede şi gata; iar pentru a o vedea este suficient văzul, este suficient să nu fii orb. Imaginea nu se vede în chineză, arabă sau engleză. Repet: se vede şi gata."* Un risc imens pentru omenire: cuvintele, limba - suportul gândirii - trec pe un plan secund! Inamicul public rămâne principalul furnizor de imagini, televizorul. Dimpotrivă, se speră într-o *alianţă carte-Internet*. Din fericire, în imagistica medicală nu este suficientă doar percepţia vizuală, ci şi interpretarea imaginii, în contextul datelor medicale disponibile.

Revenind la subiect, după o divagaţie utilă, să încercăm mai întâi *o definiţie a imagisticii medicale*, un domeniu a cărei evoluţie în ultimele patru decenii este excepţională, adesea surprinzătoare, depăşind orice predicţie, atât în planul inovaţiilor tehnice, cât şi în cel al aplicaţiilor clinice. Astfel încât, în prezent o definiţie cuprinzătoare, cât mai aproape de realitate, este dificilă. Într-o formă concisă, imagistica medicală cuprinde ***ansamblul tehnicilor şi metodelor care permit obţinerea unor imagini (reprezentări grafice) morfologice sau funcţionale, a unor regiuni anatomice sau a unor organe, în scopul unui diagnostic medical sau în scop terapeutic.*** O astfel de definiţie nu oferă o idee prea clară asupra extensiei actuale a imagisticii medicale. De aceea, mult mai relevantă este *o enumerare a domeniilor imagisticii medicale* începând cu radiologia, cu cele trei direcţii principale: radiodiagnostic, tomografie computerizată şi radiologie intervenţională. Şi continuând în ordinea apariţiei cronologice cu medicina nucleară (îndeosebi scintigrafia clinică), ecografia (în continuă extensie, cu subdomenii distincte bine conturate, ca de ex. în cazul cardiologiei şi gastroenterologiei-hepatologiei), imagistica prin rezonanţă magnetică, endoscopia-fibroscopia (cu o evoluţie rapidă

datorită utilizării fibrelor din sticlă şi asocierii recente cu videocamere miniaturizate), termografia medicală (uneori supraevaluată de cei ce o practică). O altă sursă puternică de imagini medicale este miscroscopia, începând cu numeroasele tipuri de microscoape optice (îndeosebi microscopul cu fluorescenţă, de mare specificitate în cazul utilizării de anticorpi - markeri fluorescenţi), microscopia electronică (prin transmisie şi cu baleiaj), microanaliza nucleară şi microscopia ionică, microscopul confocal şi, în fine, microscopul de forţă atomică. Faptul că metodele şi tehnicile de microscopie nu sunt cuprinse, de regulă, în imagistica medicală, nu este semnificativ. Pentru că importantă este doar asocierea tehnicilor de imagistică cu cele de microscopie, uneori determinantă în stabilirea unui diagnostic. De ex., detectarea prin scintigrafie a unei metastaze osoase de origine necunoscută asociată cu puncţie ţintită la nivelul metastazei şi urmată de examen histopatologic. În acest mod se poate stabili originea tumorii primare.

Care sunt caracteristicile cele mai generale ale unui dispozitiv utilizat în imagistica medicală? Dacă este să ne luăm după limbajul oficial, la care se aliniază disciplinaţi destui manageri generali, ca să nu mai vorbim de jurnalişti, un astfel de dispozitiv trebuie să fie *performant* iar dotarea, evident, la nivelul *standardelor europene*. Ce o fi însemnând acest adj. *performant*, pentru că în DEX nu îl găsim. Se află însă inclus în *Dict. LAROUSSE - performant, e adj. : capabil de performanţe bune sau foarte bune, competitiv*. Dacă în sport performanţa se măsoară în valori numerice, în cazul unui sistem tehnic imagistic termenul este mai vag, sugerând eventual că acesta face parte din ultima generaţie de aparate. Cât priveşte sintagma *standarde europene*, ea a devenit, prin repetiţie, o obsesie care, paradoxal, este fără subiect. Pentru că, pur şi simplu, nu există standarde europene fixe, de exemplu privind doatarea cu un anumit tip de aparat la un milion de locuitori. Este adevărat, însă, că în fiecare ţară occidentală, cu o medicină dezvoltată raţional, ca un sistem armonios, se urmăreşte distribuţia şi gradul de utilizare a aparaturii la nivel naţional. Pentru că aparatura destinată imagisticii medicale este scumpă şi impune cheltuiele considerabile ulterioare, inclusiv asigurarea unui service de calitate, uneori o anumită evoluţie se produce treptat, cum este cazul în prezent al sistemelor hibride PET-CT. Desigur, se compară dotarea din diferitele ţări ale CE, dar decizia asupra unei investigaţii semnificative în aparatură se bazează pe date concrete primite de la medicii specialişti din diferite domenii ale imagisticii: durata de timp în care sunt explorate cazurile ce reprezintă o urgenţă, durata medie de rezolvare în celelalte cazuri. O astfel de evaluare este utilă numai când solicitările medicilor practicieni sunt formulate în cunoştinţă de cauză, adică pe baza unor algoritmi de diagnostic, dar şi a unei educaţii medicale continui de calitate. La noi în ţară o asemenea evaluare este, în cele mai multe cazuri, iluzorie. Să ne referim, de ex., la cazul extrem, al celui mai puţin dezvoltat (deocamdată?) domeniu al imagisticii, *Medicina Nucleară*. Pentru toată *Moldova* există un singur laborator, la *Spitalul Universitar „Sf. Spiridon"*, din *Iaşi*. În aceste condiţii există cu siguranţă medici practicieni care renunţă la explorările scintigrafice din motive de inaccesibilitate, alteori din cauza birocraţiei impusă de decontarea prin CAS, sau, din păcate, uneori din cauza absenţei educaţiei medicale în domeniul medicinii nucleare.

Cu toată diversitatea, aparatele - dispozitivele utilizate în imagistica medicală au trei caracteristici comune: *sensibilitatea*, *specificitatea* şi *rezoluţia*. Prin ***sensibilitate*** se înţelege proprietatea sistemului de achiziţie a datelor, al unui dispozitiv imagistic, de a măsura o intensitate minimă a agentului fizic pe baza căruia se obţine imaginea. ***Specificitatea***, în cazul la care ne referim, reprezintă proprietatea sistemului imagistic de a furniza imagini caracteristice pentru diverse procese patologice. ***Rezoluţia*** sistemului imagistic, prin analogie cu microscopul optic, poate fi considerată ca dimensiunea minimă la care o formaţiune patologică solidă poate fi detectată.

Redactor Şef

Prof. dr. Valeriu RUSU

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

COMPUTER-BASED SIMULATOR FOR TRAINING IN GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY

Anca Trifan, C Stanciu
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
Institute of Gastroenterology and Hepatology Iaşi

COMPUTER-BASED SIMULATOR FOR TRAINING IN GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY (Abstract): The concept of a simulator as a training tool is well established, notabily in aviation. Skills in gastrointestinal endoscopy mainly depend on experience and are routinely acquired by practicing on patients, initially under supervision of a senior endoscopist. Increased public's attention to medical errors, the legal and ethical issues, the progress in computer technology, the continuous introduction of new endoscopic techniques, and the changes in medical practice that limit patient availability, - all are forcing us as educators to rethink previously established principles and to use endoscopy simulators with the aim to teach fundamental endoscopic skills in a risk-free setting, away from the patient. This article reviews currently available endoscopy computer-based simulators and their potentially role in digestive endoscopic training. **Key words**: SIMULATOR, ENDOSCOPY, EDUCATION, TRAINING, SKILLS

The concept of a simulator as a training tool is well established, notably in aviation (1). Flight simulators can provide training almost equal to that obtained in real aircraft, and it has been demonstrated that such training has improved the skills of the pilots (1). Learning from such experience, it seems natural that simulators should be used for training in digestive endoscopy and other fields of medicine (2).

Different types of simulators, including mechanical (3,4), animal (5,6), animal-part (7-9) and computer-based models (10) have been used during the last four decades with the aim to teach and learn digestive endoscopic procedures.

In most countries, including Romania, at most centers, endoscopy is taught largely as it has been for decades, with trainees serving as apprentices to experienced endoscopists. However, the apprenticeship model is becoming more and more difficult to sustain as senior endoscopists (gastroenterologists) are under pressure to focus on revenue-generating work rather than on teaching. Even more important than the time of the teacher is the patient's discomfort undergoing endoscopic procedures performed by trainees (11); moreover, increased frequency of adverse events associated with endoscopic procedures involving trainees has been reported (12).

The national endoscopic societies from different countries deal with the question of how many procedures a trainee should do under supervision until he/she is allowed to perform unsupervised endoscopies (13); different societies have different recommendations as to the minimal number of procedures required to achieve competence (150-300 esophago-gastro-duodenoscopies, 100-150 colonoscopies, 100-150 endoscopic retrograde cholangio-pancreatographies) but in interventional endoscopy no learning

steps exists. Can the usage of simulators change these learning curves? A recently prospective study has shown that computer-based simulators were effective in shortening the learning curve for residents training in colonoscopy (14).

Computer-based simulators could play an important role in measuring individual endoscopic skills, and they may also offer a reliable way for continuous education and re-certification in interventional endoscopic techniques.

This article reviews currently available endoscopy computer-based simulators and their potentially role in digestive endoscopic training.

TYPES OF COMPUTER-BASED SIMULATORS

There are two types of computer-based simulators: GI Mentor developed by Simbionix (Tel-Hashomer, Israel), and Accu-Touch developed by Immersion Medical (Gaithersburg, Maryland, USA) (10,15). Both companies use endoscopes: an authentic Pentax endoscope (with some modifications) by Simbionix, and a specially designed endoscope by Immersion Medical. In both cases, there are inflation and suction buttons, and steering and torque of the endoscope are possible, thus providing trainees with realistic sensations that mimic actual endoscopic examination. Both simulators have training modules for upper endoscopy, colonoscopy, endoscopic retrograde cholangio-pancreatography (ERCP), bleeding and hemostasis; each module contains a library of clinical cases with varying degrees of difficulty and pathologic findings. Detailed feedback is provided to the trainee about each procedure: ability to visualize any pathologic findings, success in retroflexion, time to perform the procedure, success in any therapeutic procedures, and ability to complete the procedure. Once a trainee has completed a tutorial session, the teacher can view the recorded events and special notes can be sent to the trainee using a message facility.

The GI Mentor II (fig. 1) which we have in our institution for almost one year is a virtual endoscopy simulator which generates three-dimensional pictures in real time via a computer while the endoscope is moved through the gastrointestinal tract.

The software includes the following features:

1. The *„Endobasket"* module is designed to help develop depth perception and orientation: the trainee has to navigate with the endoscope through a virtual tunnel, picking up the balls with a virtual biopsy forceps attached to the tip of the scope and dropping them into a virtual basket (fig. 2); once a ball is in the basket, the ball and basket disappear and the trainee can continue navigating forward in search of the next ball. If the trainee touches the walls while navigating, red marks appear and a sound is emitted. At the end of the game, the time taken and number of correctly placed balls are registered.

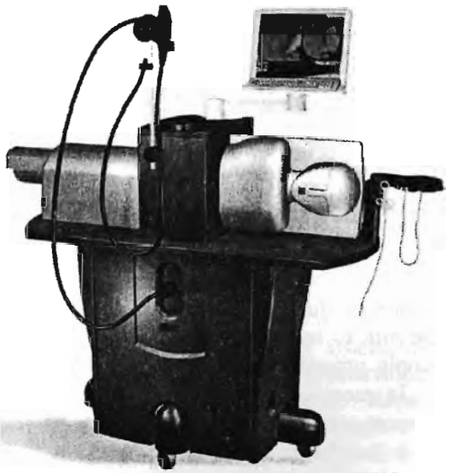


Fig. 1. Exterior view of the GI Mentor II simulator including the computer, monitor and endoscope

Fig. 2. The "Endobasket" virtual skill test: the on-screen image of a ball picked-up with a biopsy forceps

Fig. 3. The "Endobubble" virtual skill test: the on-screen image of a bubble and a needle

Fig. 4. Virtual endoscopic image of a grade IV reflux esophagitis

Fig. 5. Colonoscopy: pedunculated polyp

Fig. 6. ERCP: balloon extraction of stones from common bile duct

2. The „Endobubble" module is designed to help develop a proper grip and control of the up/down and left/right knobs of the endoscope: the trainee has to navigate with the endoscope through the virtual tunnel as in "Endobasket" test, piercing the balloons with a virtual needle attached to the tip of the scope (fig. 3); the balloons automatically burst. The test includes two levels of difficulty. In the level I game, the balloons floating in the tunnel are stationary, but in the level II the balloons move and fade away after several seconds if the trainee does not succeed in piercing them within this time. At the end of the game, the time taken and the number of balloons hits are recorded, giving an evaluation of the trainee's performance.

3. Virtual endoscopy. The core of the

virtual training software consists of:

a) two modules for *upper gastrointestinal endoscopy*, each of them consists of 10 cases with various pathologies (fig. 4). The modules are designed for trainees who have just begun the „hands-on" phase of learning and training in upper gastrointestinal endoscopy;

b) two modules for *lower gastrointestinal endoscopy (colonoscopy)*; each module consists of 10 cases with different colon anatomies and pathologies (fig. 5). These modules are designed for trainees who have just begun the „hands-on" phase of learning and training in colonscopy;

c) one module for *flexible sigmoidoscopy* which consists of 10 cases with common pathologies of the left colon;

d) two modules for *endoscopic retrograde cholangio-pancreatography* (ERCP) designed to provide trainees with a basic training model of diagnostic and therapeutic ERCP procedures; each module includes 10 cases with different biliary and pancreatic disease (fig. 6);

e) one module for *bleeding situations* wich is designed to provide trainees with a training model for emergency bleeding situations that require urgent tratment;

f) one *endoscopic ultrasonography* module (EUS) for hands-on training of EUS procedures; the trainee maneuvers an authentic scope to view a realistic linear or radial ultrasound presentation created in real time.

DISCUSSION

Our residents obtain their entire endoscopic experience in the endoscopic unit with experienced endoscopists. The trainee usually starts with observation on the monitor (in fibroscopes era, on a „teaching" prolongation fixed to the optics often called „the spy"!) and then performing parts of the procedure, and later performing a complet examination. This traditional method of digestive endoscopic training is undergoing a dramatic change. Legal and ethical issues are forcing us as educators to rethink previosly established principles of endoscopic training to the benefits of both endoscopists and patients (16). Changes in medical practice have constrained the time available for education and the availability of patients for training in digestive endoscopy. There is also increased concerns about patient's safety and willingness to undergo an endoscopic procedure performed by a trainee (17).

Skills in digestive endoscopy mainly depend on experience and practice. The endoscopic environment can be replicated in a computer-generated virtual reality format.

The development of endoscopy simulators has raised the question if training in basic manual skills is better obtained without patient contact. The main goal of computer-based simulator training is to help trainees acquire the skills needed to perform endoscopic diagnostic and therapeutic techniques prior to practicing them on living patients.

ADVANTAGES AND DISADVANTAGES

Computer-based endoscopic simulation has been an evolving technology that has been proved to be a useful endoscopic training tool (8,10,13,14). Advantages associated with the usage of the computer-based simulators include the followings: ability to provide didactic videos; training is simple and requires minimal instruction; practice at different skill levels; feedback from the virtual patient, including pain; library of clinical cases, including laboratory and imaging studies; detailed feedback to the trainee about each procedure; objectively assessment of the skills of the trainee (2,10, 18,19).

The main disadvantage of computer-based simulators is their high cost which ranges between $ 80,000 and $ 100,000

when all modules are included (15).

Will learning on computer-based simulators decrease patient's discomfort and increase safety? Can computer-based simulators distinguish between the skill levels of a novice who has never performed diagnostic and/or therapeutic endoscopic procedures and an expert who teaches such procedures? Does previous training with the simulator lead to competency in live patients more rapidly than does training solely on patients? Can computer-based simulation supplement or even replace bedside endoscopy training? These are key questions that need to be answered !

In two workshops held in 2000 in Nice and Hamburg (10), 71 gastroenterologists with an experience in endoscopy for more than one year worked on the GI-Mentor and later filled an evaluation questionnaire. Over 80% of participants felt that simulator met their expectations, considered as avantageous being trained on such simulator, felt that prior training on simulator will reduce the potential risk of complications to patients, and would recommended it to others. Aabakken et al (20) reported similar results.

Fregnose et al. (18) found that simulator pretrained residents required less time to perform the endoscopic procedure, less asistance by the tutor, and less skipped lesions compared to a control group.

Ferlitsch et al. (21) compared the performance of beginners to experts using GI Mentor and found that simulator was able to identify experts and to improve the performance of the trainees; however, no conclusions could be made about the impact of computer-based simulator training on real-life endoscopy.

Sedlack and Kolars (19) have found similar findings using the Immersion simulator which was able to discriminate between novice, intermediate and trained endoscopist. More recently, RE Sedlack (22) in a pilot study aimed to validate the use of computer simulation in novice esophagogastroduodenoscopy (EGD) training has found that this simulator had limitations to the degree of fidelity and could differentiate only nocive endoscopists from other levels of competence; moreover, skills learned during EGD simulation training did not appear to translate well into patient-based endoscopy skills.

Datta et al. (23) confirmed previous findings, and showed that the Immersion simulator could discriminate between nocive, intermediate and trained endoscopists performing sigmoidoscopy.

Buzink et al. (24) found that training in both virtual reality colonoscopy and Endo-Bubble tasks on the GI Mentor II improved the basic endoscope navigation skills of novice endoscopists significantly.

Cohen et al. (14) reported that residents who underwent GI Mentor training performed significantly better during the early phase of real colonoscopy training.

A study performed in Denmark (25) compared 8 faculty members experienced with colonoscopy to 10 residents who were undergoing training and 10 medical students without prior use of the GI Mentor simulator; results showed that the experienced endoscopists demonstrated the best performance parameters. Other studies (26, 27) have demonstrated that the endoscopic computer-based simulator was able to distingnish between levels of experience during colonoscopy.

Clark et al. (28) found that endoscopic computer-based simulators allowed residents to master the technical aspects of gastrointestinal endoscopy quickly.

DiGiulio et al. (29) reported that computer-based simulator was effective in providing novice trainees with the skills needed for basic endosocpic maneuvers and in reducing the need for assitance by instructor.

Park et al. (30) recently reported that

residents trained on a computer-based colonoscopy simulator prior to their first patient-based colonoscopy performed significantly better in the clinical setting than controls, demonstrating skill transfer to live patients.

Van Dougen et al. (31) have shown that performance of the various tasks on the LapSim virtual reality simulator (Surgical Science Ltd, Gothenburg, Sweden) corresponds to the respective level of endoscopic experience (novices, residents in training, experienced endoscopists).

Moorthy et al. (32) in a study aimed to evaluated the ability of GI Mentor simulator to assess the skills in endoscopy, have found this simulator to be a useful tool for determining whether a trainee has achieved a desired level of competence in endoscopy. This study showed the ability of the computer-based endoscopy simulator to discriminate between endoscopists of varying experience. The authors found a significant difference between novices and experts in all parameters (time taken for the procedure, percentage of mucosa visualized, efficiency of performance).

EFFECTS ON REAL ENDOSCOPY

There have been few studies showing transfer of computer-based simulator training to real life because it is difficult to assess performance in real procedures.

Gerson and van Dam (33), in a controlled trial, found that traditional bed-side teaching method was superior to the training on simulator only. RE Sedlack (22) reported that skills learned during upper gastrointestinal endoscopy simulation training did not appear to translate well into patient-based endoscopy skills. Although evidence is available for computer-based simulators to be suitable tools in training basic endoscopic skills (2, 10,14,19,20,21, 23), the effect of these simulators on real endoscopy remains uncertain, and an overconfidence in the virtual-reality training is not recommended.

CONCLUSIONS

No doubt, endoscopy computer-based simulators represent a major advance in endoscopic training; they can be used in both initial endoscopic training and for ongoing assessment of skill level of endoscopists at predefined intervals. Like with airline pilots, endoscopists, too, should maintain their high level skills and computer-based simulators could achieve this aim. With the progression of technology and the continuous introduction of new endoscopic techniques, it is easy to forsee a day when hands-on training using virtual-reality simulators will be readily and widely available. However, computer-based simulators will never totally replace the training on live patients under the strict supervision of an experienced teacher.

REFERENCES

1. Helmreich RL, Foushee HC. Why crew resources management? In: Weiner EL, Kanki BG, Helmreich RL editors. *Cockpit resource management*. San-Diego, Academic Press, 1993, 3-46.
2. Bar-Meir S. The role of simulators in Endoscopy. *Train the Trainees Workshop,* Crete, Greece, 2004.
3. Markman HD. A new system for teaching proctosigmoidoscopic morphology. *Am J Gastroentrol* 1969; 52: 65-69.
4. Grund K, Brautigam D, Zindel C et al. Interventionsfahiges tubinger simulationsmodell interphant fur die flexible endoskopie. *Endoskopie heutr* 1998; 11: 134.
5. Gholson CF, Provenza JM, Silver RC et al. Endoscopic retrograde cholangiography in swine: a new model for endoscopic training and hepatobiliary research. *Gastrointest Endosc* 1990; 36: 600-603.

6. Noar MD. An established porcine model for animate training in diagnostic and therapeutic ERCP. *Endoscopy* 1995; 27: 77-80.
7. Freys SM, Heimbucher J, Fuchs KH. Teaching upper gastrointestinal endoscopy: the pig stomach. *Endoscopy* 1995; 27: 73-76.
8. Hochberger J, Neumann M, Hohenberger W et al. EASIE-Erlangen Education Simulation Model for Interventional Endoscopy-a new bio training model for surgical endoscopy. *Biomed Tech (Berl)* 1997; 42: 334.
9. Neumann M, Mayer G, Ell C et al. The Erlangen Endo-Trainer: life-like simulation for diagnostic and interventional endoscopic retrograde cholangiography. *Endoscopy* 2000; 32: 906-910.
10. Bar-Meir S. A new endoscopic simulator. *Endoscopy* 2000; 32: 898-900.
11. Schoen RE, Weissfeld JL, Bowen NJ et al. Patient satisfaction with screening flexible sigmoidoscopy. *Arch Intern Med* 2000; 160: 1790-6.
12. Bini EJ, Firoozi B, Choung RJ et al. Systematic evaluation of complications related to endoscopy in a training setting: A prospective 30-day outcomes study. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 8-16.
13. American Society of Gastrointestinal Endoscopy. Trainee evaluation form. Manchester, Massachusetts USA: American Society for Gastrointestinal Endoscopy; 1982.
14. Cohen J, Cohen SA, Vora KC, et al. Multicenter, randomized, controlled trial of virtual-reality simulator training in acquisition of competency in colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 361-368.
15. Gerson LB. Can colonoscopy simulators enhance the learning curve for trainees? *Gastrointest Endosc* 2006; 64: 369-74.
16. Roberts KE, Bell RL, Duffy AJ. Evolution of surgical skills training. *World J Gastroenterol* 2006; 12; 3219-3224.
17. Costamagna C. The impact of simulators on training in digestive endoscopy. *Digestive and Liver Disease* 2007; 39: 79-80.
18. Fregonese D, Casetti T, Cestari R et al. Basic endoscopy training: usefulness of a computer-based simulator. Cooperative group for training in endoscopy. *Gastointest Endosc* 2001; 53: AB81.
19. Sedlack RE, Kolars JC. Validation of the Computer-Based Colonoscopy Simulator. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 214-8.
20. Aabakken L, Adamsen S, Kruse A. Performance of a colonoscopy simulator: experience from a hands-on endoscopy course. *Endoscopy* 2000; 32: 911-3.
21. Ferlitsch A. Evaluation of a virtual endoscopy simulator for training in gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy* 2002; 34: 698-702.
22. Sedlack RE. Validation of computer simulation training for esophagogastroduodenoscopy: Pilot study. *J Gastroenterol Hepatol* 2007 Jun 7; şEpub ahead of printţ.
23. Datta V, Mandalia M, Mackay S, Darzi A. The PreOp flexible sigmoidoscopy trainer. Validation and early evaluation of a virtual reality based system. *Surg Endosc* 2002; 16: 1459-63.
24. Buzink SN, Koch AD, Heemskerk J et al. Acquiring basic endoscopy skills by training on the GI Mentor II. *Surg Endosc* 2007 May 5; şEpub ahead of printţ.
25. Grantcharov TP, Carstensen L, Schulze S. Objective assessment of gastrointestinal endoscopy skills using a virtual reality simulator. *JSLS* 2005; 9: 130-3.
26. Mahmood T, Darzi A. A study to validate the colonoscopy simulator. *Surg Endosc* 2003; 17: 1583-1589.
27. Felsher JJ, Olesevich M, Farres H et al. Validation of a flexible endoscopy simulator. *Am J Surg* 2005; 189: 497-500.
28. Clark JA, Volchok JA, Hazey JW, Sadighi PJ, Fanelli RD. Initial experience using an endoscopic simulator to train surgical residents in flexible endoscopy in a community medical center residency program. *Curr Surg* 2005; 62: 59-63.
29. Di Giulio E, Fregonese D, Casetti T et al. Training with a computer-based simulator achieves basic manual skills required for upper endoscopy: a randomized controlled trial. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 196-200.
30. Park J, MacRae H, Musselman LJ et al. Randomized controlled trial of virtual reality simulator training: transfer to live patients. *Am J Surg* 2007; 194: 205-211.

31. Van Dongen KW, Tournoij E, van der Zee DC et al. Construct validity of the LapSim: Can the LapSim virtual reality simulator distinguish between novices and experts? *Surg Endosc* 2007 feb 9; [Epub ahead of print].
32. Moorthy K, Munz Y, Orchard TR, Gould S, Rockall T, Darzi A. An innovative method for the assessment of skills in lower gastrointestinal endoscopy. *Surg Endosc* 2004; 18: 1613-1619.
33. Gerson LB, Van Dam J. Technology review: the use of simulators for training in GI endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 992-1001.

NOUTĂŢI

EFECTUL MODULUI ÎN CARE SE SIMULEAZĂ FUMATUL ŞI AL METODELOR DE COLECTARE A FUMULUI DE ŢIGARĂ ASUPRA POTENŢIALULUI MUTAGEN ŞI CITOTOXIC AL ACESTUIA

Există o întreagă istorie privind utilizarea testelor *in vitro* pentru evidenţierea proprietăţilor toxicologice ale fumului de ţigară. Rezultatele prezentate în literatura de specialitate au fost obţinute în cea mai mare parte utilizând fum de ţigară prelevat conform standardelor Federal Trade Commission (FTC) sau International Organization for Standardization (ISO). Totuşi, numeroase studii au arătat că fumătorii fumează mai mult din ţigări (trag fumuri mai mari sau trag mai des sau obstrucţionează parţial filtrul, împiedicând ventilarea acestuia) decât maşinile pentru simularea fumatului supuse standardelor FTC sau ISO. S-a constatat deasemenea că fumul de ţigară îşi modifică compoziţia odată cu modul în care sunt fumate ţigările. Unele agenţii guvernamentale au adoptat reglementări (Health Canada Intensive, HCI, etc) care specifică condiţii mai stricte pentru prelevarea fumului de ţigară pentru testele toxicologice *in vitro*. Drept urmare, performanţa testului Ames (TA98 + S9, TA100 + S9) şi a testului de absorbţie a colorantului roşu neutru sub regementările ISO şi HCI a fost studiată utilizând 2 tipuri de ţigări de referinţă ce conţin amestecuri din diferite soiuri de tutun (KR1R4F/KR1R5F) şi un tip de ţigări de referinţă în compoziţia cărora intră tutun prelucrat prin căldură uscată. Principala concluzie s-a tras atunci când rezultatele au fost raportate la miligrame de fum reţinut de maşina pentru simulat fumatul. Fumul reţinut de dispozitiv în condiţiile reglementărilor ISO are un efect mutagen şi citotoxic mai pronunţat decât cel reţinut în condiţiile reglementărilor HCI. Totuşi, scăderea activităţii biologice nu poate fi explicată numai prin creşterea conţinutului în apă a fumului reţinut în dispozitiv ca urmare a trecerii de la standardele ISO la cele HCI, iar rezultatele pot fi influenţate de diferenţele ce apar în compoziţia fumului, ca rezultat al utilizării sistemelor diferite de colectare a fumului (Rickert WS, Trivedi AH, Momin RA, Wright WG, Lauterbach JH. Effect of smoking conditions and methods of collection on the mutagenicity and cytotoxicity of cigarette mainstream smoke. *Toxicol Sci* 2007; 96 (2): 285-293).

B. Şlencu

EXTRAGASTRIC MANIFESTATIONS OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION

Cristina Cijevschi Prelipcean[1], Cătălina Mihai[1], P. Gogălniceanu[2], Dana Mitrică[1], V.L. Drug[1], C. Stanciu[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
1 Institute of Gastroenterology and Hepatology Iaşi
2 University College of London

EXTRAGASTRIC MANIFESTATIONS OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION (Abstract): The role of *Helicobacter pylori* (HP) in some digestive diseases (gastritis, ulcer, gastric cancer, MALT lymphoma) is well known. It has been suggested relatively recently that infection with HP can be involved in various extra-digestive conditions: respiratory disorders (chronic obstructive pulmonary disease, bronchiectasis, lung cancer, pulmonary tuberculosis, bronchial asthma); vascular disorders (ischaemic heart disease, stroke, primary Raynaud phenomena, primary headache); autoimmune disorders (Sjogren syndrome, Henoch-Schonlein purpura, autoimmune thrombocytopenia, autoimmune thyroiditis, Parkinson's disease, idiopathic chronic urticaria, rosacea, alopecia areata); other disorders (iron deficiency anaemia, growth retardations, liver cirrhosis). Case studies, small patient series and non-randomized trials that have shown a beneficial effect of HP eradication in different conditions are not convincing. According to Mastricht III the only conditions where HP eradication is indicated are immune thrombocytopenic purpura and iron deficiency anaemia. **Key words**: *HELICOBACTER PYLORI*, EXTRAGASTRIC MANIFESTATIONS, IRON DEFICIENCY ANAEMIA, IMMUNE THROMBOCYTOPENIC PURPURA

In 1890 Bottcher first describes a microorganism in the gastric mucosa. In 1916 Kassai and Kobayashi isolate H. Felis from a dog's stomach and demonstrate the role of infection in upper gastrointestinal haemorrhage in animals. They experimentally eradicated the infection using Arsaminol (the modern equivalent of bismuth) (1). In 1938 Doenges notes the presence of curved bacilli most likely corresponding with *Helicobacter pylori* (HP). In 1975 curved bacilli are associated with gastritis by Sterr and Colin Jones and in 1954 Palmer denies the presence of bacteraemia in the stomach during life due gastric acidity; he considers this to occur only after death. In 1984 - Marshall and Warren publish "Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration" in the Lancet; they demonstrate for the first the involvement of HP in the development of peptic ulcers. In 1940 International Agency for the Research on Cancer recognise HP as a group 1 carcinogen. In 2005 Marshall and Warren won the Nobel Prize for medicine.

In 2007 infection with HP remains in the spotlight:

1. is the link with extra-digestive conditions coincidental or not?
2. what is the mechanism of action in extra-digestive conditions?
3. what is the effect of eradication in extra-digestive conditions?

PATHOLOGICAL MECHANISMS

Existing studies have contradicting opinions, ranging from those finding an association between bacterial infection and the development of numerous extra-digestive conditions, to those that deny any link between the two (2).

Two types of HP have been isolated:

Type I: HP associated with vacuolating cytotoxin (Vac A) and cytotoxin associated gene (Cag A);

Type II: HP not associated with the above mentioned proteins.

These two types have possibly distinct pathological potential. Type HP can induce tissue changes in response to gastric epithelial cytokines and can lead, directly or indirectly, to a local inflammatory response. This is not as often encountered in Type II Hp due to the lack of Vac A and Cag A(3).

It has been suggested relatively recently that infection with HP can be involved in the extra-digestive conditions. This is based on the following (3, 4):

- local inflammation can have systemic effects;
- gastric infection with HP is a chronic process that may take years;
- chronic infection can lead to chronic inflammation and an immune response, which can in turn, cause lesion locally or distal to the site of the primary infection.

HP infection determines the local and systemic inflammatory response.

HP is a Gram negative microrganism containing lipo-polysaccharide which stimulates the production of cytokines, including interleukins (IL 1, IL 6) and tumour necrosis factor (TNFα) (5). The possible mediators of extra-gastric disease include IL 1, TNFα, leukotrienes, interferon γ, C4 and platelet activating factor (6).

HELICOBACTER PYLORI AND EXTRAGASTRIC MANIFESTATIONS

HP infection has been associated with different extra-gastric manifestations:

· *Respiratory disorders*: chronic obstructive pulmonary disease, bronchiectasis, lung cancer, pulmonary tuberculosis, bronchial asthma;

· *Vascular disorders*: ischaemic heart disease, stroke, primary Raynaud phenomena, primary headache;

· *Autoimmune disorders*: Sjogren syndrome, Henoch-Schonlein purpura, autoimmune thrombocytopenia, autoimmune thyroiditis, Parkinson's disease, idiopathic chronic urticaria, rosacea, alopecia areata;

· *Other disorder*: iron deficiency anaemia, growth retardations, liver cirrhosis.

INFECTION WITH *HELICOBACTER PYLORI* AND PULMONARY DISEASE

Lung cancer and HP

HP infection could lead to the development of lung cancer by upregulating gastrin and Cox-2 production, which could stimulate the development of tumours and angiogenesis (7). The increase in plasma gastrin secretion due to HP infection could be involved in carcinogenesis by inducing the proliferation of bronchial mucosal epithelial cells (7). Furthermore, inhalation HP or aspiration of its exotoxins can cause their accumulation in the lungs. Studies published to date do not reach a consensus. On one hand Ece (8) found a correlation between HP Vac A infection and lung cancer. On the other hand Phillippou did not find a correlation between these two (9).

Chronic bronchitis and HP

Recent epidemiological studies (10) suggest that in women HP infection is more common in those with chronic bronchitis. The mechanism of action has not yet been identified. One possibility is that in HP Cag A positive individuals, the infection induces the formation of multiple inflammatory markers (IL 1, IL 8, TNFα etc.); this resolves after HP eradication (11). Thus HP infection (in particular the Cag A positive

type) could act as a cofactor, along with environmental and genetic factors, in the development of chronic bronchitis. An alternative mechanism involves the inhalation and aspiration of HP and its exotoxins in the upper respiratory tract and the development of chronic inflammation, and eventually chronic bronchitis (12).

Asthma and HP

A study by Tsang et al. (13) was unable to establish a link between asthma and HP. Further studies are needed.

Pulmonary tuberculosis and HP

Currently, it has not been possible to associate HP with tuberculosis infection (14). However some epidemiological studies (15, 16) based on HP serology show a higher frequency of tuberculosis infection in those with HP. Nevertheless, the pathogenetic role of HB in tuberculosis has not been clarified.

Some suggest that HP eradication would be beneficial in individuals suffering from *bronchiectasis* and *obstructive sleep apnoea* (17,18,19).

In all the respiratory conditions mentioned, HP had not been detected in the bronchial tissue and had not been isolated by broncho-alveolar lavage (12). Further studies are needed to establish the exact pathological mechanism of action and consequences of eradication of HP in patients with lung disease.

HEART DISEASE AND HP

The role of HP infection in the initiation and promotion of inflammation is well known. A similar mechanism may also be involved in the development of cardio-vascular disease. Several studies exist:

- *Acute coronary artery syndrome* (including acute myocardial infarct) and lowered high density protein levels (HDL)(20,21);
- *High arterial blood pressure* (HP infection would reduce blood pressure) (2,22);
- *Ischaemic vascular accidents* (2);
- *Coronary thrombosis* following surgical re-vascularization (23);
- *Atherosclerosis* – 'early trigger' role of HP (24).

The above mentioned studies suggest that HP infection may be involved in chronic atherosclerosis and in particular acute cardiovascular disease. However, these are seen as being controversial opinions, met with a varying degree of support (2). According to consensus reached at Mastricht 3, links between HP infection and cardio-vascular disease are not recognized. Further studies are needed to confirm this.

HEPATOBILIARY DISEASE AND HP

Different species of helicobacter frequently involved in hepatobiliary disease include: *H. pylori*, *H. rodentium*, "*Flexispira rappini*" and *H. pullorum*. The origin and prevalence of these microorganisms remains unknown. However, it most likely that they adopt an ascending route through the duodenum. Care must be exercised in associating HP infection with hepato-biliary disease.

Biliary disease

Infection with helicobacter species may have a role (albeit not a critical one) in the following hepato-biliary conditions:

- Helicobacter species have been identified in Chileans suffering from *chronic cholecystitis*, characterized by altered biliary contractility, leading to changes in bile properties which may favor the survival of the helicobacter species (25);
- Helicobacter infection acts as a cofactor in the formation of *biliary tree lithiasis* (26);
- Infection with helicobacter species has been noted in *sclerosing cholangitis* and *primary biliary cirrhosis*, with discrimination between the different species (27,28);
- Individuals with different conditions grouped under the diagnosis of *"cholestasis"* are more likely to have higher alkaline phosphatase levels if infected with HP, than

those not infected;

- Individuals with a high risk of gallbladder and *biliary cancer* are frequently infected with Helicobacter bilis (25). This may be due to the role of helicobacter species in accelerating cellular kinetics in carcinogenesis (29).

Hepatic disease

Some studies associate HP infection with *liver cirrhosis* (30). These studies note the high prevalence of HP infection in cirrhosis compared to control groups consisting of blood donors.

Based on HP's ability to synthesize ammonia due to its urease activity, Suto et al. (31) have argued that HP may sustain *hepatic encephalopathy* in rodents with liver cirrhosis induced by choline deficient diet. They have shown that portal and peripheral ammoneamia is significantly raised in experimentally induced cirrhosis complicated by hepato-portal encephalopathy and HP infection. These results have been met with contradictory responses. Some authors have demonstrated the beneficial effects of HP eradication in hepato-portal encephalopathy (32), whilst others have opposed it (33). The antibiotics used to combat the infection are not specific to Helicobacter, consequently diminishing the ammonia-producing GI bacterial flora in general. In conclusion, it is not possible to recommend HP eradication in individuals with liver cirrhosis. The use of antibiotics should also be judicious, as their hepatotoxic side effects (e.g. tetracylcines) are well known, thus upholding the fundamental principle of "*Primum non nocere*" (First, do no harm) (34).

Other studies have shown that the Helicobacter species have a role in the progression of *chronic hepatitis B* (34). A recent study (2006) shows that HP infection could partially affect the iron deposits in *chronic viral hepatitis C*, causing their decrease and thus having a protective role (35).

Alcoholic hepatitis and HP infection. Kuntz believes that Hp could diminish the activity of alcohol dehydrogenase gastric isoenzyme (responsible for 10% of alcohol metabolism; found in gastric mucosal cells), thus increasing the negative effect of alcohol on the liver (36). Similarly, cimetidine and ranitidine are inhibitors of alcohol dehydrogenase.

Two studies have shown the possible link between Helicobacter (*Helicobacter hepaticus*) and the development of *hepatocellular carcinoma* (37). This theory is only a hypothesis and requires further research (38).

There are no studies suggesting a role for HP in pancreatic pathology, probably due to the bactericidal effects of pancreatic secretion which prevent the survival of helicobacter.

HP INFECTION AND SKIN DISEASE

Acne rosacea is a chronic dermatosis characterized by multiple relapses and unclear aetiology, being associated with gastrointestinal manifestations such as: gastritis, hypochlorhidria and abnormalities of the jejunal mucosa (39). The most frequently encountered GI symptoms in acne rosacea are: dyspepsia, constipation, diarrhea and abdominal discomfort. Often, acne rosacea may present in a seasonal manner, similar to ulcers (40). In 1994 Rebora et al. described for the first time an association between HP and acne rosacea (41). Different conclusions have been reached by subsequent studies. Some have shown remarkable involution of acne rosace following the eradication of co-existent HP infection (40). Others have found no improvement in the condition following the anti HP therapy (42). Currently there is insufficient data to justify the eradication of HP in patients with acne roascea (43). Further investigation and multicentre controlled studies are needed to establish the virulence of HP strains (Cag A positive) in acne rosacea, considering that the classic

"pustular papula" responds best to the eradication of HP.

There are also controversial studies arguing for and against the possible association between HP and *chronic urticaria*. Federman et al suggest the use of HP screening and eradication in chronic urticaria, after other causes have been excluded (44). In contrast, Noacco et al suggest that this association is extremely controversial (45).

HP INFECTION AND IRON DEFICIENCY ANAEMIA

Occasionally the cause of iron deficiency anaemia cannot be identified despite full investigation. Epidemiological studies have shown a possible relationship between HP infection and iron deficiency anaemia of unknown cause. Furthermore, studies have suggested that the treatment of HP in such cases leads to an improvement in the anaemia (46,47). Pathological mechanisms explaining this may include:

- occult blood loss secondary to chronic erosive gastritis;
- reduced iron absorption secondary to chronic gastritis and hypo/a-chlorhidria;
- a raised iron demand and use by HP.

It remains unclear however, why an infection as common as that with HP, affects such a small proportion of those infected. Epidemiological studies have also revealed that two major groups of individuals with HP infections are particularly at risk of iron deficiency anaemia: children and postmenopausal women. There have been a low number of uncontrolled studies in few patients and only one randomized controlled trial. Further studies are needed to address these issues.

In conclusion, according to existing data, including data from Mastricht III, in individuals with iron deficiency anaemia, testing for HP infection should take place. Should this be positive, treatment should be commenced.

HP INFECTION AND IMMUNE THROMBOCYTOPOENIC PURPURA

Published data shows that 278 out of 482 patients diagnosed with immune thrombocytopenic purpura (ITP) were infected with HP (58%). This was successfully treated in 88%. Normal thrombocyte levels were achieved in half (50%) of patients following HP eradication (48).

Mechanisms in which HP can be related to ITP include:

- autoantibodies against thrombocytes may develop in HP and ITP. Following Hp eradication, the normalization of thrombocyte numbers was associated with a fall in autoantibody numbers in the majority of cases (48);
- Cross-reactivity between thrombocytes linked to immunoglobulins (Ig G) and HP Cag A;
- Certain HP strains can induce platelet adhesion (49).

The varied response to HP eradication maybe explained by: individual host genetic factors (HLA class system) and bacterial factors (variability in bacterial types)

In conclusion, HP eradication therapy is associated with a partial or total increase in thrombocyte count in approximately half the patients with HP and ITP.

HP INFECTION AND NEUROLOGICAL CONDITIONS

Epidemiological studies (50) have shown that there is a raised incidence of HP infection in *Parkinson's disease* and furthermore, according to some, an improvement in symptoms following eradication therapy. In Parkinson's disease the bacterial infection may act as a neurotoxin, causing degeneration of dopaminergic neurons (51).

Similarly, HP infection has also been frequently detected in patients with *Alzheimer's disease*, compared to unaffected control groups (52).

In patients with the frequent version of *Guillaim Barre syndrome* – acute inflammatory demyelinating polyradiculopathy – HP infection is more prevalent and, according to some, is an indicator of advanced disease (53).

OTHER CONDITIONS ASSOCIATED WITH HP INFECTION

Obstetrics. HP infection may be responsible for nausea and vomiting during *pregnancy* (54).

Paediatrics. HP may be associated with a decrease rate of *growth* in children (55). In such cases, eradication would act to improve nutritional status (56).

Dentistry. HP infection in dental plaque: the bacteria may cause *halitosis* by raising the levels of hydrogen sulphate / dimethyl suphate. Treatment of HP infection may lead to an improvement in symptoms (57). In *aphtous stomatitis* the testing and treatment of HP infection could have a favorable effect according to some.

Colorectal cancer. Currently no association has been demonstrated between colorectal cancer and HP (as a possible parallel between the effect of HP on gastric cancer) (58). Some have suggested that HP has a role in colonic carcinogenesis by raising the level of gastrin, which in turn would act as a growth factor. Studies by Fujimori (59) and Mizumo (60) have shown the increase in risk of colon cancer in women aged 40-80 who were infected with HP, as well as an increase in the number of adenomatous polyps in those similarly infected. As a results they, have suggested an aetiological link between HP infection and colorectal cancer.

Ophthalmology. According to certain authors the treatment of HP in individuals with *glaucoma* is encouraging (61), whilst others claim that an association cannot be demonstrated. Some also recommend HP eradication in *belpharitis* and *uveitis* (62).

Ear, Nose and Throat. Sinusitis, as well as *otitis media* may resolve after HP eradication.

Celiac disease. HP infection does not affect the clinical characteristics of celiac disease, and a gluten free diet has the same effect whether the patient is HP infected or not (63).

Diabetes mellitus. Some studies have linked HP infection and insulin resistance (64).

CONCLUSION

Case studies, small patient series and non-randomized trials that have shown a beneficial effect of HP eradication in different conditions are not convincing. Further studies are needed to provide the scientific evidence regarding this. According to Mastricht III the only conditions where HP eradication is indicated are immune thrombocytopenic purpura and iron deficiency anaemia.

REFERENCES

1. Kassai K, Kobayashi M et al. The stomach spirochet occurring in mammalian. *J Parasitol* 1916, 6: 1-10.
2. Gasbarrini A. Helicobacter pylori and extragastric diseases – other Helicobacters. *Helicobacter* 2004; 8: 68-79.
3. Realdi G, Dore MP, Fastame et al. Extradigestive manifestations of H. Pylori infection: fact and fiction. *Dig Dis Sci* 1999; 44: 229-236.
4. Cammaroat G. Helicobacter pylori is an aetiologic factor for the ischemic heart disease: the case against. *Digest Liver Dis* 2000; 32: 62-68.
5. Gasbarrini A, Pola P, Franceschi F et al. Extraintestinal pathology associated with Helicobacter infection. *Eu J Gastroenterolo Hepatol* 1997; 9: 231-233.

6. Kontureks J. Role of Hpylori infection in extraintestinal disorders Introductory remarks. *J Physiol Pharmacol* 1999, 50: 683-694.
7. Gocyk W. Helicobacter pylori, gastrin and cyclooxigenase-2 in lung cancers. *Med Sci Monit* 2000; 6: 1085-1092.
8. Ece F, Hatabay N, Erdal N et al. Does Helicobacter pylori infection play a role in lung cancer? *Respir Med* 2005; 99: 1258-1262.
9. Philippou N, Koursarakos P, Anastasakou E et al. Helicobacter pylori seropreva Pronai L, Schandl Llence in patients with lung cancer, *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3342-3344.
10. Gaselli M. Helicobacter pylori and chronic bronchitis. *Scan J Gastroenterol* 1999; 34: 828-830.
11. Roussos A, Pronai L, Schandl L. H pylori seroprevalence in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2005; 99: 279-284.
12. Peterson WL. In: Feldman M et al: *Gastrointestinal and Liver Disease. Pathophysiology, Diagnosis, Management.* 6th ed. Philadelphia: WB Sounders, 1998, 604-619.
13. Tsang KW, Lam WK, Chan KN et al. Helicobacter seroprevalence in asthma. *Resp Med* 2000; 94: 756-759.
14. Sanaka M et al. No dif Roussos A, Tsimboukas F. Difference in seroprevalence of Helicobacter pylori infection between patients with pulmonary tuberculosis and those without. *J Clin Gastroenterol* 1998; 27: 331-334.
15. Filippou N, Roussos A, Tsimboukas F et al. Helicobacter seroprevalence in patients with pulmonary tuberculosis. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 189.
16. Mitchell HM, Li YY, Hu PJ et al. Epidemiology of Helicobacter pylori in Southern China: identification of early childhood as the critical period for acquisition. *J Infect Dis* 1992; 166: 149-153.
17. Lvan A. Investigations of Helicobacter pylori in bronchoscopic lung specimens of young male patients with bronchiectasis but without gastrointestinal symptoms. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10: 257-260.
18. Dubos F, Gottrand F, Devisme L et al. The end of Helicobacter pylori as a hypothetic cause of SIDS. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1206-1207.
19. Unal M, Özturk L, Özturk C et al. The seroprevalence of Helicobacter pylori infection in patients with obstructive sleep apnoea: a preliminary study. *Clin Otolaryng* 2003; 28: 100-102.
20. Singh RK, A.D. McMahon, Patel H. Prospective analysis of the association of infection with Cag A bearing strains of Helicobacter pylori and coronary heart disease. *Heart* 2002; 88: 43-46.
21. Figura N, Cetta F, Angelico M et al. Infection by Cag A positive Helicobacter pylori strains in patients with ischemic heart disease. Prevalence and association with exercise – induced electrocardiografic abnormalities. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 831-836.
22. Kashima T. Cardiovascular risk factors in subjects with Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2002; 7: 86-90.
23. Horne BD, Muhlestein JB, Strobel GG et al. Greater pathogen burden but not elevated C reactive protein increases the risk of clinical restenosis after percutaneus coronary intervention. *Am Heart J* 2002; 144: 491-500.
24. Franceschi F et al. Cross reactivity of anti Cag A antibodies with vascular wall antigenes. Possible pathogenic link between Helicobacter pylori infection and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 106: 430-434.
25. Fox JG, Dewhirst FE, Shen Z et al. Hepatic Helicobacter Species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis. *Gastroenterology* 1998; 114: 755-763.
26. Tanaka A, Prindiville TP, Gish R et al. Are infectious agents involved in primary bilary cirrhosis? A PCR approach. *J Hepatol* 1999; 31: 664-671.
27. Monstein HJ, Jonsson J, Zdolesk M et al. Identification of Helicobacter pylori DNA in human cholesterol gallstones. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 112-119.
28. Leong RW, Sung JJY. Detection of Proteobacter and Helicobacter species in bile and association with hepatobiliary disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16 (Suppl.): A35.
29. Hynes SO. The effect of bile on protein expression by intestinal Helicobacters, determined using ProteinChip(r) Technology. *Gut* 2001; 49 (Suppl 2): A 67.

30. Siringo S. High prevalence of Helicobacter pylori in liver cirrhosis : relationschip with clinical and endoscopic features and the risk of peptic ulcer. *Dig Dis Sci* 1997 ; 42 : 2024-2030.
31. Suto H, Azuma T, Ito S et al. Helicobacter pylori infection induces hyperammonemia in Mongolian gerbils with liver cirrhosis. *Gut* 2001 ; 48 : 605-608.
32. Dasani BM, Sigal SH, Lieber CS. Analysis of the risk factors for chronic hepatic encephalopaty : The role of Helicobacter pylori infection. *Am J Gastroenterol* 1998 ; 93 : 726-731.
33. Vasconez C, Elizalde JL, Llach J et al. Helicobacter pylori, hyperamonemia and subclinical portosistemic encephalopaty : effects of eradication. *J Hepatol* 1999 ; 30 : 260-264.
34. Gonciarz M, Wloch M, Gonciarz Z. Helicobacter pylori in liver diseases. *J Phsiol Pharmacol* 2006 ; 57, suppl 3 : 155-161.
35. Sumida Y. Influence of Helicobacter pylori infection on iron accumulation in hepatitis C. *Liver International* 2006, 26 : 827-833.
36. Kuntz E et al. *Hepatology, Principles and Practice*. Heidelberg : Springer Medizin Verlag 2006.
37. Avenaud P, Marais A, Monteiro L et al. Detection of Helicobacter species in the liver of patients with and without primary liver carcinoma. *Cancer* 2000 ; 89 : 1431-1439.
38. Fukuda K, Kuroki T, TajimaY et al. Comparative analysis of Helicobacter DNA's and biliary pathology in patients with and without hepatobiliary cancer. *Carcinogenesis* 2002 ; L3 : 1927-1932.
39. Marks R, Beard RJ, Clark ML et al. Gastrointestinal observations in Rosacea. *Lancet* 1967 : 1 : 739-743.
40. Crowford GH, Pelle MT, James WD et al. Rosacea etiology, pathogenesis and subtypes clasification, *J.Am. Acad. Dermatol* 2004, 57 : 327-341.
41. Rebora A. Helicobacter pylori in patients with rosacea. *Am J Gastroenterol* 1994, 89 : 16003-16004.
42. Herr H. Relationship between Helicobacter pylori and rosacea : it may be a myth. *J Korean Med Sci* 2000 ; 15 : 511-514.
43. Mones J et al. Conferencia Espaniola de Consenso sobre Helicobacter Pylori. Indications, eradication tests and Helicobacter pylori eradication therapy. Recomandations by the 2 end Spanish Consensus Conference. *Rev Esp Enferm Dig* 2005 ; 97 : 348-374.
44. Di Campli C, Gasbarrini A, Nucera E et al. Beneficial effects of Helicobacter pylori eradication on idiopathic chronic urticaria. *Dig Dis Sci* 1998 ; 43 : 1226-1229.
45. Noacco G, Cribier B. Chronic urticaria and infectious diseases. *Ann Dermatol Venerol* 2003 ; 130 : 1S43-1S52.
46. Konno M, Muraoka S, Takahashi M et al. Iron deficiency anemia associated with Helicobacter pylori gastritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000, 31 : 52-56.
47. Gessner BD. A controlled, household randomised, open label trial of the effect that treatement of Helicobacter pylori infection has on iron deficiency in children. *J Infect Dis* 2006 ; 193 : 537-546.
48. Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglioni L et al. Regression of autoimune thrombocytopenia purpura after eradication of Helicobacter pylori. *Lancet* 1998 ; 352 : 878.
49. Byrne MF, Kerrigan SW, Corcoran PA et al. Helicobacter pylori binds von Willebrand factor and interacts with GPIb to induce platelet aggregation. *Gastroenterology* 2003 ; 124 : 1846-1854.
50. Bjarnason IT. Role of Chronic infection and inflmation in the gastrointestinal tract in the ethiology and pathogenesis of idiopathic parkinsonism : part 2 : response facets of clinical clinical idiopatic parkinsonism to Helicobacter pylori eradication. A randomized, double blind, placebo controlled efficacy study. *Helicobacter* 2005 ; 10 : 276-287.
51. Schultz JD. Helicobacter pylori and parkinsonism : cholesterol glucosides as the common denominator. *Med Hypotheses* 2006 ; 66 : 1222-1226.
52. Kountouras J, Tsolaki M, Gavalas E et al. Relationship between Helicobacter pylori infection and Alzheimer disease. *Neurol* 2006 ; 66 : 938-940.
53. Hidekazu Suzuki. Overview : Helicobacter pylori and extragastric disease. *Int J Hematol* 2006 ; 84 : 291-300.
54. Kazerooni T. Helicobacter pylori seropostivity in patients with hyperemesis gravidarium. *Int J Gynecol Obstet* 2002 ; 79 : 217-220.

55. Ertem D, Pehlivanolu E. Helicobacter pylori may influence height in children independent of socioeconomic factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002 ; 35 : 232-233.
56. FurutaT. Effect of Helicobacter pylori infection and its eradication on nutrition. *Aliment Pharmacol Ther* 2002 ; 16 : 799-806.
57. Hoshi K. Gastrointestinal disease and halitosis : association of gastric Helicobacter pylori infection. *Int Dental J* 2002 ; 52 : 207-211.
58. Limburg PJ. Helicobacter pylori seropozitivity and colorectal cancer risk : a prospective study of male smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002 ; 11 : 1095-1099.
59. Fujimori S. Helicobacter pylori infection increases the risk of colorectal adenoma and adenocarcinoma, especially in women. *J Gastroenterol* 2005 ; 40 : 887-893.
60. Mizumo S. Helicobacter pylori infection is associated with colon adenomatous polyps detected by high resolution colonoscopy. *Int J Can* 2005 ; 117 : 1058-1059.
61. Kountouras J. Induction of apoptosis as a proposed pathophisiological link between glaucoma and Helicobacter pylori infection. *Med Hypotheses* 2004 ; 62 : 378-381.
62. Sacca SC, Pascotto A, Venturino GM et al. Prevalence and treatement of Helicobacter pylori in patients with blepharitis. *Invest Ophtalmol Sci* 2006 ; 47 : 501-508.
63. Vincenzo V. Helicobacter pylori infection in patients with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2006 ; 1880-1884.
64. Aydemir S. The effect of Helicobacter pylori on insulino resistance. *Dig Dis Sci* 2005 ; 50 : 2090-2093.

NOUTĂŢI

MĂSURAREA RATEI DE FILTRARE GLOMERULARĂ ÎN BOALA RENALĂ CRONICĂ

Rata de filtrare glomerulară (GRF) evaluează funcţia renală. GRF este măsurată prin tehnici de clerance renal ; clearance-ul inulinei este standardul de aur dar nu este uşor de efectuat. Au fost folosite şi alte metode de a determina GRF. Clearance-ul creatininei endogene (CrCl) este cel mai larg utilizat dar secreţia creatininei creşte fals CrCl. Cimetidina inhibă secreţia de creatinină aşa încât Cr Cl este superpozabil pe GRF atât timp cât nu sunt dificultăţi în evacuarea vezicii urinare. Estimarea GRF folosind creatinina serică (ex. formula Schwartz) este folosită frecvent în clinică ; totuşi, asemenea formule nu au fost actualizate pentru autoanalyzeri enzimatici. Cystatin C, o proteină de mici dimensiuni, este produsă cu o rată relativ constantă şi este reabsorbită în tubul proximal. Cystatin C poate fi mai sensibil decât creatinina în sesizarea reducerii GRF dar mai sunt necesare încă studii pentru a putea dovedi aceasta. Tehnica clearance-ului prin injectare unică este cea mai precisă metodă de măsurare a GRF. Iohexolul este un marker exogen care este comparabil cu inulina şi 51Cr-EDTA şi poate fi măsurat prin cromatografie lichidiană de înalta performanţă (HPLC). Studiile Chronic Kidney Disease in Children (CKiD) North American arată că iohexol poate măsura cu mare acurateţe GRF folosind patru puncte pe curba de concentraţie (10, 30, 120, 300 min) sau, în cele mai multe cazuri, două puncte (120 şi 300 min) (Schwartz GJ, Furth SL. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007 ; 22 : 1839-1848).

Mihaela Munteanu

HEMOCROMATOZA EREDITARĂ - BOALĂ CU FEŢE MULTIPLE

Camelia Cojocariu, Anca Trifan, C. Stanciu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi

HEREDITARY HEMOCHROMATOSIS (Abstract): Hereditary hemochromatosis is an inherited disorder of iron metabolism in the Caucasian population with an autosomal recessive inheritance and a prevalence between 1 in 200 and 1 in 500. Until the discovery of HFE gene the diagnosis of hemochromatosis required documentation of iron overload or family linkage using HLA testing. The discovery of HFE gene has established the foundation for a better understanding of iron homeostazy and has changed hemochromatosis management: liver biopsy, gold standard diagnostic, was replaced by genetic test and it was suggested that population screening using genetic testing might be ideal for HFE related hemochromatosis. Considered for long time a unitary disease, a monogenic disorder characterized by excess tissue deposits of iron and subsequently organ damage, hemochromatosis is in fact a polygenic disease with many faces. The Online Mendelian Inheritance in Man database has lists four types of hereditary hemochromatosis, each of them caused by a different gene mutation (hepcidine, hemojuvelin, transferring receptor 2, ferroportin). The basic features shared by iron overload disorders associated with mutation in HFE, hepcidine, hemojuvelin, transferring receptor 2, ferroportin gene indicate that they are genetic variation of the same syndrome. Hereditary hemochromatosis must be distinguished from the other syndrome of iron overload and the classic term hereditary hemochromatosis should be reserved only for HFE related hemochromatosis. **Key words**: HEREDITARY HEMOCHROMATOSIS, HFE GENE, HEPCIDINE, HEMOJUVELIN, TRANSFERRING RECEPTOR 2, FERROPORTIN

Hemocromatoza ereditară, modelul bolilor prin încărcare cu fier, este o anomalie înnăscută a metabolismului fierului, cu transmitere autosomal recesivă, caracterizată prin creşterea absorbţiei intestinale a fierului şi depunerea secundară a acestuia în celulele unor organe parenchimatoase.

Primul caz în literatură este menţionat în 1847 de Virchow dar în 1865 Trousseau descrie pentru prima dată tabloul clinic complet al bolii sub numele de ciroză bronzată. Doi ani mai târziu, Perls evidenţiază granulele de hemosiderină intracelular, utilizând coloraţia ce-i poartă numele, iar în 1889 von Recklinhausen denumeşte această afecţiune, caracterizată prin depunerea hemosiderinei în celule, hemocromatoză. Boala era diagnosticată la acea dată în fazele tardive, de afectare multiorganică şi apariţia triadei clinice clasice: ciroză hepatică, diabet zaharat, melanodermie.

În 1935 Sheldon recunoaşte caracterul ereditar al bolii (ca eroare înnăscută a metabolismului fierului) şi, bazânu-se pe analiza a 350 de cazuri raportate până la acea dată, precizează că "hemocromatoza este o boală rară" (1).

DIAGNOSTICUL FENOTIPIC

Până la descoperirea genei hemocromatozei diagnosticul era stabilit în fazele tardive ale bolii, de afectare multiorganică, cu tabloul clinic clasic al diabetului bronzat. Boala are evoluţie îndelungată asimptomatică, primele manifestări evidente clinic fiind remarcate după vârsta de 45-50 ani, în momentul în care leziunile sunt ireversibile.

În anii '80 Simon et al. (2,3) afirmă caracterul genetic al bolii, cu transmitere autosomal recesivă, localizând gena implicată în geneza bolii pe braţul scurt al cromozomului 6, aproape de locusul HLA-A. Perfecţionarea metodelor biochimice de determinare a sideremiei, saturaţiei transferinei şi feritinei serice au modificat strategia de diagnostic: constatarea la două examinări a unei saturaţii a transferinei peste 60% era considerată înalt sugestivă pentru hemocromatoză (cu condiţia excluderii altor cauze de hipersideremie). Screeningul prin determinarea saturaţiei transferinei aprecia o prevalenţă a hemocromatozei de 2,4-8,3‰ locuitori, astfel încât aceasta începe să fie considerată o boală destul de frecventă în populaţia nord Europeană (1, 4,5).

În această perioadă se defineşte fenotipul hemocromatozic, criteriu esenţial de diagnostic, caracterizat prin: hiperferitinemie (peste 200 g‰ la bărbaţi şi 300 g‰ la femei) şi indice de saturaţie al transferinei peste 50% la bărbaţi şi 45% la femei dar criteriul esenţial pentru diagnostic rămâne puncţia biopsie hepatică.(1,5,6)

Examenul histologic (coloraţie Perls) şi biochimic al produsului de biopsie confirmă încărcarea hepatică cu fier cu predominanţă hepatocitară, periportală; permite evaluarea semicantitativă a fierului hepatic; estimează gradul leziunilor de fibroză şi al nodulilor cu fier (locul de elecţie pentru dezvoltarea unui hepatocarcinom); identifică eventualele leziuni asociate (steatoză, alcoolice, virale). Indexul fierului hepatic (IFH), calculat prin raportarea concentraţiei fierului hepatic (CFH) la vârsta pacientului, tradiţional, este considerat cel mai specific şi mai fiabil criteriu pentru diagnosticul hemocromatozei. Spre deosebire de celelalte sindroame de încărcare cu fier, pacienţii cu hemocromatoză au o creştere progresivă cu vârsta a IFH. 6 studii multicentrice au arătat că valoarea IFH > 1,9 este criteriu diagnostic (1,5). Rezultate fals pozitive pot apare în cazul cirozelor hepatice avansate, când, indiferent de etiologie, IFH poate depăşi 1,9 (3,5); studii recente au arătat însă că 10%-15% din pacienţii cu hemocromatoză (diagnosticată prin studierea HLA sau genotipare) au IFH < 1,9 (2,3, 5). Obligativitatea PBH pentru diagnostic este destul de controversată; unii autori consideră că valori crescute ale feritinei şi IST sunt elemente suficiente pentru diagnosticul unui sindrom de încărcare cu fier, flebotomia terapeutică urmând a diferenţia hemocromatoza de celelalte cauze ale încărcării cu fier: pacienţii hemocromatozici tolerează clinic şi biologic cel puţin 8-11 flebotomii, în timp ce în celelalte cazuri pacienţii devin anemici după 4-6 flebotomii. În acelaşi timp însă, este unanim acceptat că fără PBH mulţi pacienţi sunt subdiagnosticaţi; rezultatul este nu numai asupra prognosticului personal nefavorabil, dar şi ratarea dignosticului precoce al altor cazuri, deoarece nu se va face screening-ul familial.

DIAGNOSTICUL GENETIC AL HEMOCROMATOZEI

În 1996 a fost identificată gena hemocromatozei ereditare (HFE); gena codifică o proteină a sistemului major de histocompatibilitate clasa 1 care reglează transportul celular al fierului prin legarea de receptorii transferinici, prevalenţa acesteia, în formă homozigotă, fiind estimată la 5/‰ (6,7). Termenul de hemocromatoză ereditară este utilizat numai pentru formele de încărcare cu fier asociate mutaţiilor HFE, determinate de absorbţia intestinală a fierului (8,9).

În studiul original al lui Feder et al. 83% dintre pacienţii cu fenotip tipic HH erau homozigoţi pentru mutaţia C282Y iar 4% heterozigoţi: C282Y-H63D. Nume-

roase studii ulterioare nu au confirmat însă aceste date, frecvenţa homozigoţilor fiind net diferită de la o ţară la alta: 69% în Italia (10,11), 76% în sudul Franţei, 93% în Marea Britaniei şi chiar 100% în Australia (3). În populaţia generală, mutaţia C282Y este răspândită inegal pe glob: absentă sau foarte rară în Africa şi Asia are frecvenţă maximă în nordul Europei, scăzând de la nord-vest la sud-est: 20% în Irlanda şi 3% în sudul Italiei (3,10,12). Frecvenţa scăzută a pacienţilor italieni homozigoţi, dar cu tablou fenotipic caracteristic pentru hemocromatoză, s-ar datora asocierii unor factori favorizanţi pentru încărcarea cu fier: hepatitele cronice virale C, terenul thalasemic (12,13,14). Mutaţia C282Y este considerată în prezent o mutaţie a Europei de Nord, unde forma heterozigotă este întâlnită cu o frecvenţă de 8%-12% în populaţia generală; unul din 200 de europeni este purtătorul unui genotip care la o vârstă înaintată îl expune la riscul dezvoltării unui sindrom de încărcare cu fier (3). În formă homozigotă mutaţia C282Y este prezentă la 0,4% dintre europeni şi statusul homozigot C282Y este considerat genotipul care caracterizează hemocromatoza ereditară. Aceste elemente au făcut ca la sfârşitul anilor 2000 hemocromatoza ereditară, considerată mult timp o boală foarte rară, să fie privită ca boală frecventă în populaţia caucaziană. Cea de a doua mutaţie, H63D, a fost găsită în studiul lui Feder la 2,4% dintre bolnavi, însă frecvenţa ei în populaţia generală este mult mai mare, de 15%-20% (3,7). Rolul său în patogeneza bolii este discutabil: ar putea fi o mutaţie minoră cu rol favorizant în încărcarea cu fier, numai în prezenţa mutaţiei C282Y sau poate fi numai un simplu polimorfism (3,6,7).

Prezenţa în toate studiile a pacienţilor fără mutaţii HFE sugerau existenţa probabil şi a altor mutaţii sau altor gene implicate în determinismul bolii. În toate studiile, 10%-15% dintre pacienţii cu fenotip HH nu prezintă mutaţie C282Y (15,16). Piperno et al. (10,11) au descris două noi mutaţii HFE prezente la 5 pacienţi italieni cu hemocromatoză formă heterozigotă C282Z. Intervenţia şi a altor factori în exprimarea încărcării cu fier este sugerată şi de existenţa persoanelor homozigote pentru mutaţia C282Y dar care nu realizează criteriile diagnostice pentru hemocromatoză; sunt persoane cu risc important de boală, dar dacă o vor exprima sau nu rămâne de stabilit. Un studiu australian remarcă această situaţie la 17,3% dintre homozigoţi (15).

Penetranţa mutaţiilor genei HFE nu este cunoscută dar rezultatul numeroaselor studii este că în timp ce mutaţia este frecventă boala este rară, contrar credinţei din urmă cu 2-3 ani . Studiile genetice efectuate la pacienţii cu porfirie cutanată tardivă au descoperit un număr apreciabil de pacienţi homozigoţi C282Y, fără tablou clasic de hemocromatoză. De asemenea, frecvenţa mare a heterozigoţilor în populaţia generală pare discordantă cu numărul relativ de redus al bolnavilor cu hemocromatoză. Cu toate aceste rezerve, la începutul noului mileniu era unanim acceptat că hemocromatoza ereditară este cea mai întâlnită boală metabolică în nordul Europei, cu frecvenţă de 1 caz la 200 - 300 persoane, statusul homozigot C282Y fiind genotipul care defineşte hemocromatoza ereditară. Peste 50% din persoanele cu predispoziţie genetică vor dezvolta la un moment dat o formă de boală (1,3).

Definiţia fenotipică a hemocromatozei este criticată deoarece nu defineşte şi nu particularizează evoluţia naturală şi prognosticul bolii, şi mai ales nu oferă un algoritm optim de diagnostic (6). De la această dată, criteriile de diagnostic eminamente clinice şi biochimice au fost suplimentate cu cele genetice; diagnosticul de hemocromatoză poate fi susţinut în prezenţa unuia dintre următoarele criterii (cu condiţia excluderii cauzelor de încărcare secundară cu fier): depozite hepatice de fier grad 3-4, concentraţie hepatică a fierului peste 80 mMol/g ţesut hepatic uscat, index hepatic al fierului peste 1,9, îndepărtarea prin flebotomii a cel puţin 5 g fier fără a determina anemie, prezenţa genotipului homozigot C282Y sau heterozigot C282Z şi H63D (3,17).

Rolul punctiei biopsie hepatice, considerată până la acea dată standardul de aur în diagnosticul hemocromatozei, începe să scadă: nu mai este considerată esenţială pentru diagnosticul pozitiv dar rămâne valoroasă pentru aprecierea prognostică. (5)

Mult timp hemocromatoza ereditară a fost privită ca entitate clinică şi genetică unică total diferită de alte sindroame de încărcare cu fier (8,15). După descoperirea genei HFE s-a constatat că nu toţi pacienţii cu fenotip hemocromatozic înnăscut au mutaţii la nivelul acestei gene, în special în ţările sud europene şi mulţi pacienţi cu genotip hemocromatozic nu prezintă sindrom de încărcare cu fier.

Mutaţia este necesară dar nu suficientă pentru exprimarea bolii şi prezenţa statusului homozigot semnifică predispoziţie genetică nu boala în sine. Persoanele cu încărcare cu fier se pot încadra în una din următoarele situaţii: a) persoane homozigote dar fără nici o anomalie biologică sau histologică; acestea sunt persoane cu risc, însă rămâne de stabilit dacă vor exprima sau nu boala şi de ce unii o dezvoltă iar alţii nu; b) persoane cu încărcare cu fier (aproximativ 2-5 g) dar complet asimptomatice; c) pacienţi cu simptomatologie precoce a încărcării cu fier (astenie, artralgii); d) încărcare cu fier asociată cu leziuni organice, în mod particular ciroză (18).

Toate aceste constatări au impus utilizarea unui nou termen - hemocromatoză non HFE - utilizat pentru cazurile de încărcare cu fier dar cu absenţa mutaţiilor genei HFE (8,15); termenul reflectă de fapt necunoaşterea bazei genetice a acestor entităţi.

HEMOCROMATOZELE GENETICE

Mutaţiile altor gene care controlează mecanismul metabolismului fierului determină boli prin supraîncărcare cu fier, cu acumularea fierului în ţesuturi şi alterări organice unele diferite, altele similare hemocromatozei ereditare clasice. Progresele realizate în domeniul geneticii au modificat algoritmul de diagnostic al hemocromatozei ereditare, au demonstrat că expresiile fenotipice ale unei mutaţii a genelor ce intervin în metabolismul fierului sunt variabile şi, recent, OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) precizează existenţa a patru forme de hemocromatoză ereditară, fiecare determinată de mutaţii la nivelul altei gene (8), astfel încât termenul de hemocromatoză ereditară, utilizat până nu demult numai pentru formele asociate mutaţiei HFE este extins şi la alte entităţi clinice (tab. I).

Caracteristicile hemocromatozei ereditare clasice (care rămâne cea mai comună formă de hemocromatoză în populaţia europeană) sunt regăsite şi în alte forme fenotipice de hemocromatoză. Tipul 2A, 2B şi 3 de hemocromatoză au acelaşi mecanism patogenic, tablou clinic şi transmiterea autosomal recesivă ca şi hemocromatoza ereditară, exprimându-se ca forme ale aceluiaşi sindrom (8,19,20). Tipul 4, boala feroportinei are epidemiologie, istorie naturală şi patogenie moleculară diferită de a hemocromatozei ereditare, deci probabil şi abordare diagnostică şi screening diferită (20).

Considerarea acestor patru forme ca hemocromatoze ereditare este criticabilă deoarece are la bază numai criteriul mutaţiilor genetice, fără a lua în considerare aspectele clinico-evolutive ale acestora. Mai mult, în această clasificare nu sunt incluse alte forme de încărcare primară cu fier, cu determinism genetic, cum ar fi aceruloplasminemia şi atransferinemia.

În practică, clasificarea sindroamelor de încărcare cu fier se bazează pe modul de

TABELUL I

Încărcările primare cu fier – clasificate ca hemocromatoze ereditare de către OMIM

Afecţiunea	Hemocromatoza ereditară	Hemocromatoza ereditară juvenilă		Hemocromatoza TfR2	Boala feroportinei
OMIM	Hemocromatoză tip 1	Hemocromatoză tip 2a	Hemocromatoză tip 2b	Hemocromatoză tip 3	Hemocromatoză tip 4
genei	6p21.3	1q21	19q 13.1	7q 22	2q 32
Numele genei	HFE	HJV-hemojuvelin	HAMP-hepcidin	TfR2-receptor transferină	SLC11A3-feroportină
Transmitere	AR	AR		AR	AD
Anomalii biochimice	Precoce ↑IST şi feritină (prima decadă)	Precoce ↑IST şi feritină (prima decadă)		Precoce ↑IST (decada 2-3)	În stadii avansate Hiperferitinemie
Depozitarea fier	Ficat, glande endocrine, inimă	Ficat, glande endocrine, inimă		Ficat, glande endocrine, inimă	Ficat, glande endocrine, inimă
Localizare fier	Parenchimatoasă	Parenchimatoasă		Parenchimatoasă	Reticuloendotelială
distrucţii	Variabil	Crescut		Variabil	Scăzut
Anemie	Nu	Nu		Nu	Posibil după flebotomii, menstrual
Manifestări clinice	hepatică, endocrină (hipogonadism), cardiacă	hepatică, endocrină (hipogonadism), cardiacă		Boală hepatică	Boală hepatică Anemie
terapeutic	Excelent	Excelent	Excelent	Excelent	Scăderea rapidă a IST dar hiperferitinemiei şi risc de anemie
Debut	40-50 ani	20-30 ani	20-30 ani	40-50 ani	40-50 ani

determinare al acestuia; primar, rezultat al unei tulburări metabolice înnăscute, sau secundar altor afecţiuni, care determină în final creşterea absorbţiei fierului (tab. II).

HEMOCROMATOZA JUVENILĂ

În urmă cu peste 15 ani Cazzola et all au semnalat câteva cazuri de hemocromatoză genetică, cu debut la vârste tinere, cu afectare egală a ambelor sexe, cu tablou clinic dominat de hipogonadism hipogonadotrofic; decesul a survenit destul de rapid prin disfuncţie cardiacă, în ciuda tratamentului standard pentru hemocromatoză (21). În ultimii ani studiile realizate în special în Grecia şi Italia au demonstrat existenţa sindroamelor de încărcare cu fier fără cauză secundară necorelate cu gena hemocromatozei (20,21,22).

Încadrată de către OMIM ca hemocromatoză tip 2, hemocromatoza juvenilă este o afecţiune cu transmitere autosomal recesivă caracterizată prin realizarea unui sindrom sever de încărcare cu fier la vârste tinere.

Analiza genetică a pacienţilor au evidenţiat într-un număr redus de cazuri mutaţii la nivelul genei HAMP (gene ce reglează sinteza hepcidinei), cele mai multe cazuri fiind însă corelate cu mutaţii ale unei gene situată pe cromosomul 1q21. Recent a fost identificată la acest nivel gena care produce hemojuvelina (HJV, numită iniţial HFE2), o proteină exprimată la nivel hepatic, cardiac şi al muşchilor scheletici, şi care intervine în metabolismul fierului prin inhibarea absorbţiei intestinale şi a eliberării sale din depozitele hepatice şi din macrofage (20,23).

Aproximativ 50% din pacienţii de origine greacă cu hemocromatoză prezintă mutaţii la nivelul HJV, deşi în grupul de control frecvenţa mutaţiilor HJV este mai

TABELUL II

Clasificarea sindroamelor de încărcare cu fier

1. Hemocromatoza ereditară
- Corelată cu mutaţii HFE
- Necorelată cu mutaţii HFE
  - Hemocromatoza juvenilă (HFE 2)
  - Mutaţiie receptorului transferinic (HFE3)
  - Mutaţiile feroportinei (HFE 4)
  - Sindromul african de încărcare cu fier

2. Sindroame de încărcare primară cu fier
- Aceruloplasminemia
- Atransferinemia
- Încărcarea neonatală cu fier

2. Sindroame de încărcare secundară cu fier
- Anemii
  - Talasemia majoră
  - Anemia sideroblastică
  - Anemii hemolitice cronice
  - Anemia aplastică
  - Deficitul de piruvat kinază
  - Anemia responsivă la piridoxină
- Încărcare parenterală cu fier
  - Transfuzii
  - Hemodialăze repetate
  - Administrare de fier injectabil
- Boli hepatice cronice
  - Porfiria cutanată tardivă
  - Hepatita B şi C
  - Boala alcoolică a ficatului
  - Steatohepatitele non alcoolice
  - Şunturi portocave
  - Hepatosideroza dismetabolică

redusă decât cele de la nivelul HFE. Această constatare ar sugera penetranţa redusă a HFE comparativ cu cea a HJV (18,21,22).

Rata de acumulare a fierului (flebotomii) este extrem de rapidă (3,2-3,9 mg/zi) comparativ cu cea din hemocromatoza ereditară (1 mg/zi), explicându-se asfel prezenţa încărcării parenchimatoase cu fier de peste 200 mg/Kg la vârste foarte tinere, înainte de douăzeci de ani (22,23)

Boala are ca particularităţi debutul clinic la vârste tinere (de obicei înainte de douăzeci de ani) cu afectare egală a ambelor sexe, spre deosebire de hemocromatoza ereditară HFE care afectează în special sexul masculin. Tabloul clinic este dominat de hipogonadism hipogonadotrofic iar decesul se produce destul de rapid prin disfuncţie cardiacă. Afectarea hepatică, rar absentă în hemocromatoza ereditară, este de obicei minimă şi frecvent fără manifestare clinică. Predominenţa leziunilor endocrine şi cardiace sugerează că sistemul endocrin şi cordul sunt mult mai puţin rezistente la toxicitatea fierului, spre deosebire de ficat care se pare că este fiziologic protejat faţă de efectul toxic al fierului (7,18).

De asemenea, debutul precoce al manifestărilor clinice şi evoluţia rapidă a bolii sunt argumente pentru rolul major al hepcidinei în homestazia fierului, hepcidina fiind considerată la ora actuală hormonul esenţial al metabolismului fierului (22).

HEMOCROMATOZA ASOCIATĂ CU MUTAŢIILE RECEPTORULUI 2 AL TRANSFERINEI

Este mult mai rară decât celelalte hemocromatoze ereditare, transmiterea afecţiunii făcându-se autosomal recesiv.

Tabloul clinic şi histologic este similar hemocromatozei HFE (8).

BOALA FEROPORTINEI

Este o tulburare autosomal dominantă a metabolismului fierului determinată de mutaţii la nivelul genei SLC40A1 (numită iniţial SLC11A3) (8,24) Primele cazuri au fost publicate în 1999: pacienţi cu încărcare cu fier, cu tablou fenotipic similar hemocromatozei ereditare (fibroză hepatică, diabet, aritmii, impotenţă) dar fără mutaţii ale genei HFE şi cu transmitere autosomal dominantă (8,24,25).

Acumularea tisulară de fier precoce, în special în ţesutul reticuloendotelial, au postulat ipoteza unui posibil defect de reciclare a hematiilor de către celulele sistemului reticuloendotelial iar câţiva ani mai târziu, în 2001, studiul genetic al pacienţilor au evidenţiat corelarea bolii cu mutaţii ale unei gene localizate pe cromozomul 2q32 (24).

Numită SLC40A1, gena codifică o proteină - feroportina - care intervine în metabolismul fierului. Identificată în 2000, feroportina este exprimată la nivelul celulelor ce au rol important în metabolismul fierului: enterocitele duodenale, hepatocite, celulele reticuloendoteliale şi sinciţiotrofoblastul placentar (8,18,25). Feroportina intervine în două etape ale metabolismului fierului: absorbţia la nivelul enterocitelor (facilitează transportul fierului prin membrana bazolaterală şi preluarea sa de către transferină) şi eliberarea fierului din depozitele sistemului reticuloendotelial (18,24). Mutaţia A77D (înlocuirea alaninei 77 cu aspartat) la nivelul genei SLC40A1 are ca rezultat pierderea funcţiei normale a feroportinei cu dereglarea celor două mecanisme în care intervine. Spre deosebire de hemocromatoza ereditară în care depozitarea fierului se face prioritar în hepatocite (ca rezultat al creşterii absorbţiei fierului alimentar) mutaţiile feroportinei au ca rezultat încărcare cu fier în special la nivelul celulelor reticuloendoteliale. Acest aspect sugerează că motivul principal al încărcării cu fier determinat de mutaţiile feroportinei se datorează în special pierderii funcţiei feroportinei în celulele reticuloendoteliale, şi mai puţin creşterii absorbţiei intestinale de fier (24).

Tot în 2001 în populaţia daneză au fost descrise alte forme de încărcare ereditară cu fier necorelate cu HFE dar asociate cu forme heterozigote de mutaţii N144H ale SLC40A1, pentru ca ulterior să fie semnalate mutaţii diverse ale genei feroportinei în Marea Britanie, Australia, Italia, Grecia, Franţa, Asia (24); diferitele mutaţii ale acestei proteine determină aceleaşi modificări, caracterizate de acumularea fierului în macrofage.

Simptomatologia clinică, asemănătoare hemocromatozei ereditare, este în general redusă, acest fapt fiind urmarea localizării depozitelor de fier: acumularea de fier la nivelul celulelor reticuloendoteliale este mai bine tolerată şi mai puţin fibrogenetică decât acumularea hepatocitară de fier.

Biochimic - afecţiunea se caracterizează prin hiperferitinemie, detectabilă din prima decadă de viaţă, disproporţionat de mare faţă de nivelul saturaţiei transferinei care poate fi uşor crescută sau chiar normală (25) Saturaţia transferinei este mai evidentă după vârsta de 30-40 ani, dar nici atunci nu atinge nivelele din hemocromatoza ereditară (8,24). Modificările biochimice sunt rezultatul sechestrării fierului în sistemul reticuloendotelial, sechestrare care reduce cantitatea de fier disponibilă pentru a fi preluată de transferină, precum şi cea transferată spre măduva hematoformatoare. Deşi cantitatea totală a fierului în organism este crescută fierul circulant este redus, existând un deficit cronic de fier, fapt care explică tendinţa spre anemie a pacienţilor cu mutaţii ale genei feroportinei. Anemia este evidentă la tinere sau după flebotomiile terapeutice.

Examenul histopatologic hepatic - boala are câteva elemente care o diferenţiază de hemocromatoza ereditară: acumularea precoce şi preferenţială a fierului în celulele Kupffer; acumularea fierului în hepatocite este uniformă, omogenă, fără predominenţa localizării centrolobulare caracteristice hemocromatozei; în pofida depozitelor semnificative de fier hepatic leziunile hepatice sunt reprezentate în special de fibroză, cu sediu iniţial sinusoidal (5).

Spre deosebire de hemocromatoza ereditară, la care flebotomiile terapeutice au rezultate remarcabile, de obicei fără riscul

de anemie secundară, în cazul pacienţilor cu mutaţii ala genei feroportinei flebotomiile săptămânale sunt de multe ori rău tolerate. Frecvent există riscul de apariţie a anemiei, cu scăderea simultană a saturaţiei transferinei dar fără corectarea hiperferitinemiei iar la întreruperea programului de flebotomii feritinemia creşte rapid.

Ultimii 10 ani au schimbat radical modalitatea de diagnostic şi abordare al sindroamelor de înărcare cu fier. Hemocromatozele genetice au determinism plurigenetic dar precizarea exactă a genei implicate, diagnosticul genetic, nu este posibil decât în cazuri foarte rare. Pentru majoritatea clinicienilor diagnosticul hemocromatozei genetice presupune precizarea formei HFE corelată sau nu. Progresele uimitoare din ultimii ani în descifrarea metabolismului fierului şi a implicării sale în patologie dă speranţa ca la 100 de ani de la afirmarea hemocromatozei ca boală ereditară definirea şi diagnosticul hemocromatozei să fie elucidat în totalitate (6).

BIBLIOGRAFIE

1. Bacon BR. Diagnosis and Management of Hemochromatosis. *Gastroenterology* 1997; 113: 995-999.
2. Brissot P. Genetic Hemochromatosis. Recent Advances. *HRLR* 1996; 12: XI-XVII
3. Bacon BR. Hemochromatosis: Diagnosis and Management. *Gastroenterol* 2001; 120: 718-725.
4. *** The UK Haemochromatosis Consortium. A simple genetic test identifies 90% of UK patients with haemochromatosis. *Gut* 1997; 41: 841-844.
5. Bacon BR, Tavill AS. Hemochromatosis and iron overload syndrome. In: Zakim D, Boyer TD editors. *Hepatology. A Text Book of Liver Disease.* Philadelphia: Saunders, 2002, 1439-1472.
6. Adams P. Hemochromatosis case definition: Out of focus? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3 (4): 178-179.
7. Moirand R. Hémochromatose. *Gastroenterol Clin Biol* 2000; 24: B68-B78.
8. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis. A new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 2383-2397.
9. Bittencourt PL. Assesment of HFE mutations in patients with iron overload. *Sao Paulo Med J* 2007; 125 (1): 65-67.
10. Piperno A, Arosio C, Fossati L et al. Two novel nonsense mutations of HFE gene in five unrelated Italian patients with hemochromatosis. *Gastroenterol* 2000; 119: 441-445.
11. Piperno A, Sampietro M, Pietrangelo A et al. Heterogenity of hemochromatosis in Italy. *Gastroenterol* 1998; 114: 996-1002.
12. Carella M, D'Ambrosio L, Totaro A et al. Mutation analysis of the HLA-H gene in Italian hemochromatosis patients. *Am J Hum Genet* 1997; 68: 828-832.
13. Pietrangelo A et al. Hereditary hemochromatosis in adults without pathogenic mutations in the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999; 341: 725-732.
14. McCune CA, Ravine D, CarterK et al. Iron loading and morbididty among relatives of HFE C282Y homozygotes identified eithr by population genetic testing or presenting as patients. *Gut* 2006; 55: 554-562.
15. Beutler E. The HFE Cys282Tyr mutation as a necessary but not sufficient cause of clinical hereditary hemochromatosis. *Blood* 2003; 101 (9): 3347-3350.
16. Gall JY. Hemochromatoses: genetique moleculaire. *HepatoGastro* 1999; 3 (6): 183-188.
17. Burt MJ, George PM, Upton JD et al. The significance of haemochromatosis gene mutations in the general population: implications for screening. *Gut* 1998; 43: 830-836.
18. Pietrangelo A. Non HFE hemochromatosis. *Hepatol* 2004; 39 (1): 21-29.
19. Pietrangelo A. Molecular insights into the pathogenesis of hereditary haemochromatosis. *Gut* 2006; 55: 564-568.

20. Harrison S, Bacon B. Hereditary hemochromatosis : update for 2003. *J Gastroenterol* 2003 ; 38 : 14-23.
21. Ganz T. Hepcidine, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003 ; 102 (3) : 783-788.
22. Cazzola M, Cerani P, Rovati A et al. Juvenile genetic hemochromatosis is clinically and genetically distinct from the classical HLA-related disorder. *Blood* 1998 ; 92 : 2979-2981.
23. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis J et al. Hepcidine in iron overload disorders. *Blood* 2005 ; 105 (10) : 4103-4105.
24. Pissia M, Polonifi K, Politou M et al. Prevalence of the G320V mutation of the HJV gene, associated with juveline hemochromatosis in Greece. *Blood* 2003 ; 96 : 1893-1899.
25. De Domenico I, McVey WD, Musci G, Kaplan J. Iron overload due to mutations in feroportin. *Hematologica* 2006 ; 91 : 92-95.
26. Fleming RE, Sly WS. Ferroportine mutation in autosomal dominant hemochromatosis : loss of function, gain understanding. *J Clin Invest* 2001 ; 108 (4) : 521-522.

NOUTĂŢI

ASOCIEREA ÎNTRE "CIUCURII" PREAURICULARI IZOLAŢI ŞI ANOMALII NEFROUROLOGICE

Ciucurii preauriculari izolaţi (IPT) sunt consideraţi a fi malformaţii minore în timp ce anomaliile nefro-urologice (NUA) sunt malformaţii majore. Incidenţa lor variază între 5-10 la 1000, respectiv 1-3 la 100 de nou născuţi vii. Aceasta constituie o evidenţă contradictorie în ceea ce priveşte incidenţa NUA la sugarii cu IPT. Autorii îşi propun să determine dacă asocierea între NUA şi IPT este semnificativă. În acest sens au efectuat un studiu caz-control în Spitalul de Pediatrie din Santiago, Chile, în care au evaluat sugari născuţi între aprilie 2000 şi aprilie 2005, consideraţi drept „caz" cei cu IPT şi „control" sugarii fară IPT, de acelaşi sex. Toţi subiecţii au fost examinaţi clinic şi echografic pentru identificarea anomaliilor congenitale detectabile fizic, respectiv a NUA. A fost inclus un număr de 100 cazuri şi un număr egal de cazuri-control. În fiecare grup au fost 41 copii de sex feminin. În grupul cazurilor, 2 copii au prezentat anomalii renale la examenul echografic : un caz de hidronefroză unilaterală şi un caz de agenezie renală stângă. În grupul de cazuri-control au fost găsiţi 2 copii cu anomalii : un caz de uretercel şi un caz de duplicaţie renală bilaterală. Incidenţa observată pentru NUA a fost similară în ambele grupuri, similară cu cea raportată în literatură pentru populaţia generală. Nu s-a demonstrat o diferenţă seminificativă statistic a incidenţei acestor anomalii între pacienţii care au avut IPT şi cei care nu au prezentat acestă modificare. Autorii conchid că, aşa cum reiese din studiu, examenul echografic renal nu este necesar de rutină în evaluarea copiilor născuţi cu IPT (Lizama M, Cavagnaro F, Arau R, Navarrete O, Fontanaz A-M, García CJ, Association of isolated preauricular tags and nephrourological anomalies : case-control study. *Ped Nephrol* 2007 ; 22 (5) : 658-660).

Mihaela Munteanu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ NEONATALĂ ABORDARE DIAGNOSTICĂ ŞI TERAPEUTICĂ

Larisia Mihai
Universitatea "Ovidius" Constanţa
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic Judeţean Constanţa
Clinica de Pediatrie

NEONATAL HYPERTENSION - DIAGNOSTIC AND THERAPEUTICAL APPROACH
(Abstract) : Hypertension in the neonate is a rare disease. Although the definition of hypertension in this age group has not been completely standardized, recent studies have provided new normative data that may be used to facilitate identification of such infants. The most common causes of clinically and treatable hypertension in neonates is renal artery oclusion due to thromboembolic events related to umbilical catheterization. Additionally, congenital problems such as aortic coarctation, structural renal malformations and renovascular disease, as well as acquired renal disease and certain medications must allways be considered. History and physical examination will usually identify the probable cause in most cases, and the laboratory or radiologic testing will confirm the diagnosis. Treatment of neonatal hypertension should be tailored to the severity of the blood pressure elevation, and to the underlying cause of hypertension. A wide range of therapeutic agents are now available for management of neonatal hypertension in both the acute and chronic settings, but is important to correct the iatrogenic causes before using them. In most cases hypertension will resolve, but some infants may require prolonged treatment. **Key words**: HYPERTENSION, NEONATE, ETIOLOGY, TREATMENT

Hipertensiunea arterială (HTA) constituie o afecţiune rară în perioada neonatală. Cu toate acestea, monitorizarea de rutină a tensiunii arteriale (TA) la nou-născuţii bolnavi a determinat creşterea importanţei acestei afecţiuni, demonstrând creşterea prevalenţei afecţiunii la această vârstă.

Neonatologii stabilesc diagnosticul şi tratează cu mult mai frecvent în practică hipotensiunea arterială, dar mult mai rar stabilesc diagnosticul de hipertensiune la nou-născut(1). Hipertensiunea arterială ca problemă clinică la nou-născut a fost recunoscută încă din anii '70 (2).

DEFINIŢIE

Definirea TA normale la nou-născut este o sarcină dificilă(2). Aşa cum la copii s-a demonstrat că TA creşte cu vârsta şi parametrii somatici, la nou-născuţii la termen şi la prematuri TA creşte cu vârsta gestaţională şi postconcepţională, ca şi cu greutatea la naştere(2). HTA la nou-născut este definită ca TA sistolică mai mare sau egală cu percentila 95 pentru vârstă şi sex. Valorile normale în funcţie de vârstă şi vârsta gestaţională, după diverse studii, sunt prezentate în tab. I.

Pentru sugarii diagnosticaţi cu HTA după externarea recentă din secţiile de neonatologie sunt folosite curbele de TA elaborate de *Second Task Force*, utilizând percentila 95 ca valoare de referinţă pentru diagnosticul HTA (2,3). În practică, HTA neo-

TABELUL I

Percentila 95 şi 97 pentru TAS* la nou-născut

Studiul	Tehnica	Vârsta sarcinii	Vârsta	TAS (mmHg)	
				perc95	perc97
American Academy of Pediatrics Second Task Force (3)	Prima auscultaţie sau Doppler	Nn la termen	ziua 1 ziua 8-30	96 104	
Brompton (4)	Media a 3 Doppler	Nn la termen	ziua 4 6 săpt	95 113 (veghe)	
Northern Neonatal Nursing Initiative (5)	Media a 3 sau mai multe Doppler	Nn la termen	ziua 1 ziua 10		82 111
Northern Neonatal Nursing Initiative	Media a 3 sau mai multe Doppler	24 săptămâni	ziua 1 ziua 10		57 71
		28 săptămâni	ziua 1 ziua 10		62 83
		32 săptămâni	ziua 1 ziua 10		67 94
		36 săptămâni	ziua 1 ziua 10		74 104

*tensiunea arterială sistolică

TABELUL II

Cauze de HTA neonatală

RENOVASCULARE
- Tromboembolism
- Stenoza de arteră renală
- Coarctaţia aortei abdominale
- Tromboza venei renale
- Compresia arterei renale
- Calcificare arterială idiopatică
- Sdr. Rubeolei congenitale

RENOPARENCHIMATOASE

a.CONGENITALE
- Boala polichistică renală
- Displazia renală multichistică
- Scleroza tuberoasă
- Obstrucţia joncţiunii pieloureterale
- Hipoplazie renală unilaterală
- Sdr. nefrotic congenital

b.DOBÂNDITE
- Necroza tubulară acută
- Necroza corticală
- Nefrita interstiţială
- Sdr. hemolitic-uremic
- Obstrucţii (calculi, tumori)

CARDIACE
- Coarctaţia aortei toracice

ENDOCRINE
- Hiperplazie adrenală congenitală
- Hiperaldosteronism
- Hipertiroidism
- Pseudohipoaldosteronism tip II

PULMONARE
- Displazia bronhopulmonară
- Pneumotorax

MEDICAMENTE/INTOXICAŢII

a.SUGAR
- Dexametazona
- Agenţi adrenergici
- Intoxicaţia cu vitamina D
- Teofilina
- Cafeina
- Pancuronium

b.MATERNE
- Cocaina
- Heroina

NEOPLAZII
- Tumora Wilms
- Neuroblastom

NEUROLOGICE
- Durerea
- Hipertensiunea intracraniană
- Convulsii
- Disautonomia familială
- Hematom subdural

ALTELE
- Nutriţia parenterală totală
- Hemoragie adrenală
- Hipercalcemia
- Asfixia la naştere
- Închiderea defectului peretelui abd.
- Tracţiunea asupra fătului
- ECMO
- HTA neonatală esenţială (?)

natală poate fi considerată la valori >90/60 mmHg pentru nou-născuţii la termen şi >80/45 mm Hg pentru prematuri, valori susţinute ale TAS >100 mmHg necesitând investigaţii şi tratament(6).

INCIDENŢĂ ŞI ETIOLOGIE

HTA nu reprezintă un diagnostic comun la nou-născut. Incidenţa variază în diverse studii între 0,2 până la 3%. Cauzele HTA neonatale sunt numeroase (tab. II) detaşându-se, după importanţă, două grupe mari: cauze renovasculare şi cauze renoparenchimatoase. Majoritatea cazurilor tipice întâlnite în terapia intensivă neonatală sunt secundare cateterizării arterei ombilicale – asociată cu tromboembolism afectând aorta şi/sau arterele renale.HTA de cauză renovasculară

- **Tromboza arterei renale**

Din cadrul afecţiunilor reno-vasculare dobândite, reprezintă cea mai frecventă cauză de HTA la nou-născut. Este determinată de folosirea cateterelor ombilicale, riscul apariţiei trombozei în aceste cazuri fiind foarte mare. Există studii care au demonstrat prin arteriografie, prezenţa trombilor la nivelul aortei la 95% din nou-născuţii cu cateter ombilical. Cateterul ombilical determină leziuni ale endoteliului vascular care favorizează apariţia trombilor, iar la prematurii foarte mici poate determina chiar obstrucţie mecanică a lumenului aortei.

- **Tromboza venei renale**

Reprezintă o eventualitate mai rară şi se întâlneşte la nou-născuţii care au prezentat hipotensiune arterială, deshidratare acută sau hipoxie. Se manifestă prin debut brusc cu hematurie macro-/microscopică şi apariţia unei mase abdominale. Ecografia Doppler vizualizează trombusul.

- **HTA de cauză renoparenchimatoasă**

Afecţiunile parenchimului renal ce determină HTA încă din perioada neonatală sunt rinichiul polichistic şi displazia multichistică renală.

Coarctaţia aortei

Este sugerată de creşterea TA numai la nivelul membrelor superioare. Alt semn caracteristic este absenţa pulsului la femurală, dar acest semn poate lipsi la naştere (de obicei este prezent a 3-a - a 7-a zi după naştere). Diagnosticul de certitudine se stabileşte prin ecocardiografie.

Displazia bronhopulmonară

A fost descrisă ca şi cauză de HTA la jumătatea anilor '80 de către Abman et al. (7). Patogenia este încă neclară, multifactorială, încluzând şi utilizarea îndelungată a corticoterapiei şi aminofilinei, şi corelată cu severitatea bolii determinante.

Cauze endocrine

Hiperplazia adrenală congenitală, hiperaldosteronismul, hipertiroidismul reprezintă entităţi clinice uşor de recunoscut care pot fi însoţite de HTA(2).

Medicamente care pot produce HTA la nou-născut

Administrarea unor medicamente (cortizon, teofilina, substanţe vasoactive, instilaţii conjunctivale cu fenilefrina) poate produce HTA neonatală tranzitorie. De asemenea, supraîncărcarea de volum, ca şi cocaina sau narcoticele consumate de mamă pot fi cauze de

HTA la nou-născut.

Există şi cauze rare de HTA neonatală (vezi tabelul II). Între acestea merită amintită HTA asociată tehnicii ECMO (*Extracorporeal Membrane Oxygenation*), a cărei patogenie exactă este încă incomplet înţeleasă şi care a fost descrisă la peste 50% din nou-născuţii care au necesitat ECMO (8,9).

TABLOU CLINIC

Ca şi la copiii mari sau la adulţi, HTA la nou-născut este în general o boală asimptomatică. În multe cazuri HTA este descoperită la monitorizarea de rutină a semnelor vitale, în mod particular, la nou-născuţii în stare critică. Sunt descrise ta-

blouri clinice clasice pentru nou-născuţii cu HTA. Insuficienţa cardiacă congestivă şi şocul cardiogenic reprezintă două situaţii ameninţătoare de viaţă ce pot fii întâlnite adesea. Nou-născutul „mai puţin acut" poate prezenta: dificultăţi de alimentare, tahipnee neexplicată, apnee, letargie, iritabilitate, staţionare ponderală. Sugarii externaţi din secţiile de neonatologie pot prezenta iritabilitate neexplicată, falimentul creşterii - ca singure manifestări ale HTA. Indiferent de modul de prezentare, important este ca măsurarea TA sa se facă cu acurateţe, astfel încât HTA să fie corect identificată.

Măsurarea TA la nou-născut

TA trebuie măsurată când nou-născutul este liniştit şi nu în timpul administrării prânzurilor (în somn TA este cu 5 mmHg mai mică). Metoda cea mai fiabilă este măsurarea directă, intraarterială, prin cateter arterial ombilical sau în artera radială, de calibru corespunzător. Această metodă invazivă oferă cele mai corecte valori (2). Totuşi, la nou-născuţii care nu necesită monitorizare invazivă, cel mai frecvent se foloseşte manometrul oscilometric (ex. Dinamap), utilizând o manşetă cu mărime adecvată, a cărei lungime să reprezinte 80-100% din circumferinţa braţului măsurată la jumătatea distanţei dintre acromion şi olecran, iar lăţimea 40% din aceeaşi circumferinţă (1) (fig. 1). HTA detectată oscilometric trebuie confirmată printr-o altă tehnică, cum ar fi sfingomanometria Doppler sau puls-oximetria, metode cu o acurateţe superioară oscilometriei în comparaţie cu metoda "gold-standard" - măsurarea intraarterială (10,5).

La nou-născut sfingomanometria convenţională nu este recomandată deoarece nu putem avea siguranţa identificării zgomotelor Korotkoff (1).

DIAGNOSTIC

Stabilirea etiologiei unei HTA neonatale reprezintă o provocare. Anamneza trebuie să cuprindă date despre evenimente prenatale, expuneri ale mamei la anumite substanţe (cocaina, narcotice, heroina), particularităţi ale evoluţiei perinatale, condiţii ce concură la apariţia HTA, ca şi proceduri precum cateterismul ombilical sau medicaţia curentă primită (cortizon, teofilină, substanţe vasoactive, instilaţii conjunctivale cu fenilefrina, supraîncărcare de volum). Examenul clinic va include măsurarea TA atât la membrele superioare, cât şi la membrele inferioare pentru a exclude coarctaţia aortei. Trebuie evaluat aspectul clinic general al nou-născutului, ca şi prezenţa

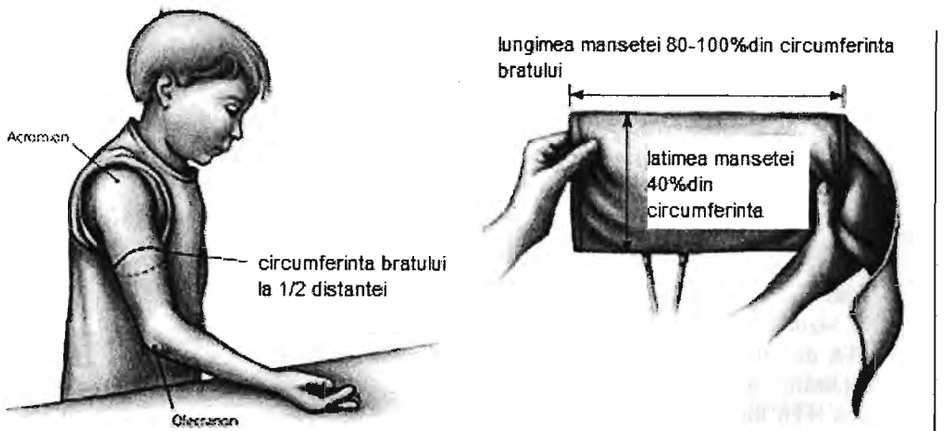


Fig. 1. Dimensiunile manşetei folosite la măsurarea TA

TABELUL III

Investigaţii paraclinice - modificat după Flynn (2)

Teste utile pentru diagnostic	Teste la pacienţii selectaţi
	Studii ale hormonilor tiroidieni
Ex. urină +/- urocultură	AVM* si AHV** urinar
Hemoleucograma + nr.Trombocite	Dozarea aldosteronului
Electroliţi serici	Dozarea cortisolului
Uree, creatinină serică	Ecocardiografie
Calcemie	Ecografie abdominală/pelvină
Renina plasmatică	Cistouretrografie micţională
Radiografie Toracică	Aortografie
Eco Doppler renală	Angiografie renală
	Renoscintigrafie

*acid vanilmandelic, **acid homovanilic

anumitor trăsături dismorfice (semne de virilizare la fetiţe, scrot şi penis mărite şi excesiv pigmentate la băieţi) care pot indica o hiperplazie adrenală congenitală. O examinare atentă cardiacă este necesară, ca şi examinarea abdomenului care poate decela mase tumorale abdominale - obstrucţie la nivelul joncţiunii uretero-pelvice - sau sufluri abdominale - stenoza de arteră renală.

În cele mai multe cazuri sunt necesare investigaţii de laborator (tab. III), deşi diagnosticul trebuie să fie sugerat de anamneză şi examenul clinic. La toţi nou-născuţii trebuie exclusă clinic şi ecocardiografic o coarctaţie de aortă. Cauzele renoparenchimatoase sau renovasculare vor fi investigate prin: examen sumar de urină, uree, creatinină, acid uric, nr. de trombocite, ecografie abdominală, tomografie computerizată, ecografie Doppler pentru studierea fluxului sanguin la nivelul arterelor şi venelor renale. De remarcat că în tromboza venei renale modificările sumarului de urină (hematuria) sunt tranzitorii, probele funcţionale renale sunt normale, iar structura şi

TABELUL IV

Agenţi antihipertensivi pentru administrare i.v. - modificat după Flynn (2)

Medicament	Clasa	Doza	Calea de administrare	Comentarii
Diazoxid	vasodilatator	2-5 mg/doză	bolus rapid	injectarea lentă – ineficientă. Poate cauza hTA
Enalaprilat	inhibitor al ECA	15±5 µg/kg/doză repeta la 8-24 ore	injectare în 5-10 min	hTA prelungită. Insuficientă renală acută
Esmolol	β blocant	100-300 µg/kg per min	i.v. continuu	actiune f. scurta – p.i.v. continuă necesară
Hidralazina	vasodilatator	0,15-0,6 mg/kg/doză 0,75-5 µg/kg per min	bolus, la 4 ore piv continuă	tahicardie
Labetalol	α şi β blocant	0,20-1,0 mg/kg/doză 0,25-3,0 mg/kg/h	bolus sau piv constantă	insuficienta cardiacă – contraind. relativă
Nicardipina	blocant al can Ca	1-3 µg/kg per min	piv constantă	poate cauza tahicardie reflexă
Sodiu nitroprusiat	vasodilatator	0,5-10 µg/kg per min	piv constantă	monitorizare tiocianati la folosirea >72h in IRA

TABELUL V

Agenţi cu administrare orală folosiţi în HTA neonatală (modificat după (2))

Medicament	Clasa	Doza	Interval	Comentarii/efecte secundare
Captopril	inhibitor al ECA	<6l: 0,01-0,5 mg/kg/doză max 6 mg/kg/zi	8h	De electie în HTA nn; monitorizarea K şi creatininei
Clonidina	inhibitor α central	0,05-0,1 mg/kg/doză	8-12h	Gura uscată, sedare, rebound la întrerupere bruscă
Hidralazina	vasodilatator	0,25-1,0 mg/kg/doză max 7,5 mg/kg/zi	6-8h	Tahicardie, retenţie de lichide. Suspensie stabilă o săptămână
Isradipina	blocant al can Ca	0,05-0,15 mg/kg/doză max 0,8 mg/kg/zi	6h	Utilă atât în HTA nn acută cât şi cronică
Amlodipina	blocant al can Ca	0,1-0,3 mg/kg/doză max 0,6 mg/kg/zi	12h	Produce hTA brusc, mai puţin decât isradipina
Minoxidil	vasodilatator	0,1-0,2 mg/kg/doză	8-12h	Cel mai potent vasodilatator oral.Excelent în HTA refractară
Propranolol	â blocant	0,5-1 mg/kg/doză	8h	Doza maximă depinde de AV(până la 8-10mg/kg/zi). De evitat în displazia bronhopulmonară
Labetalol	αsiâ blocant	1,0 mg/kg/doză max 10 mg/kg/zi	8-12h	Monitorizarea AV. De evitat în displazia bronhopulmonară
Spironolactona	diuretic	0,5-1,5 mg/kg/doză	12h	Economiseşte potasiu.Monitorizarea electroliţilor
Hidroclorotiazida	diuretic	1-3 mg/kg/doză	12h	Monitorizarea electroliţilor
Clorotiazida	diuretic	5-15 mg/kg/doza	12h	Monitorizarea electrolitilor

dimensiunile rinichilor pot fi normale. Scăderea fluxului sanguin renal poate fi obiectivată prin examen scintigrafic.

Dozarea reninei plasmatice poate fi utilizată în evaluarea nou-născuţilor cu HTA, deşi există puţine date referitoare la valorile normale la nou-născut, şi mai ales la prematur. De asemenea activitatea reninei plasmatice poate să fie normală în sângele periferic la nou-născutul cu stenoză de arteră renală sau cu tromboembolism (forme de HTA cu renina crescută), la fel cum anumite medicamente folosite în terapia intensivă neonatală (aminofilina) pot determina valori fals pozitive ale reninemiei (11).

Angiografia rămâne metoda de electie pentru diagnosticarea stenozei arterei renale, însă, în anumite situaţii, poate fi temporizată până când nou-născutul creşte în greutate, astfel încât aceasta să poată fi efectuată în siguranţă.

TRATAMENT

În prezent, există la îndemână o listă întreagă de agenţi ce pot fi utilizaţi pentru scăderea TA la nou-născut (tab. IV). Înainte însă de introducerea terapiei farmacologice este necesară evaluarea statusului nou-

născutului şi corectarea cauzelor iatrogene ale HTA, cum ar fi: perfuzia unor agenţi inotropi, supraîncărcarea de volum, durerea. Următoare etapă este reprezentată de alegerea unui agent antihipertensiv corespunzător specificului situaţiei clinice. Astfel, majoritatea cazurilor de HTA severă necesită administrarea antihipertensivului în p.i.v. continuă. Această metodă are avantajul abilităţii rapide de a creşte şi descreşte rata infuziei pentru obţinerea nivelului dorit al TA, însă necesită monitorizare continuă prin cateter arterial intraparietal. Pot fi folosiţi agenţi ca: Nicardipina, Labetalol, Nitroprusiat (tab. IV).

Terapia i.v. intermitentă poate fi folosită în HTA uşoară-moderată, la pacienţii care nu pot primi medicaţia p.o. datorită disfuncţiei gastro-intestinale. Se poate folosi Hidralazina sau Labetalol (tab. IV). Unii autori recomandă Enalaprilat, însă cu mare prudenţă şi pe o perioadă scurtă de timp, datorită riscului de hipotensiune arterială - hTA - prelungită şi de insuficienţă renală acută(12).

Agenţi antihipertensivi orali pot fi utili la pacienţii cu HTA moderată-uşoară, sau pentru terapia cronică (după controlarea valorilor TA prin p.i.v. continuă)(tab. V).

Tratamentul chirurgical are indicaţii limitate la nou-născut - obstrucţie ureterală, coarctaţie de aortă. Stenoza arterei renale necesită terapie pe termen lung până când copilul creşte suficient pentru a permite reparaţia vasculară. Când boala polichistică este cauza HTA se poate practica nefrectomie, iar în caz de tumori - excizia tumorii.

EVOLUŢIE

Prognosticul pe termen lung al HTA neonatale este bun, depinzând, însă, de evoluţia afecţiunii etiologic-determinante. Unele forme pot persista în copilărie (HTA renoparenchimatoase).

CONCLUZII

TA la nou-născut depinde de o serie de factori, incluzând vârsta gestaţională, vârsta post-natală şi greutatea la naştere. HTA poate fi întâlnită într-o varietate de situaţii în secţiile moderne de terapie intensivă neonatală, fiind foarte comună la nounăscuţii care au necesitat cateterizare ombilicală.

O evaluare diagnostică atentă trebuie să conducă la determinarea etiologică la cei mai mulţi nou-născuţi. Decizia de tratament trebuie adecvată severităţii HTA şi include agenţi antihipertensivi i.v. şi/sau orali. Cele mai mule cazuri sunt rezolvabile, dar un număr mic pot prezenta o creştere persistentă a TA pe parcursul copilăriei.

BIBLIOGRAFIE

1. Watkinson M. Hypertension in newborn baby. *Arch Dis Child Fetal Neonatol Ed* 2002; 86: F78-F81.
2. Flynn JT. Neonatal hypertension: diagnosis and management. *Pediatr Nephrol* 2000; 14: 332-341.
3. *** Task Force on Blood Pressure Control in Children. Report of the Second Task Force on Blood Pressure Control in Children 1987. *Pediatrics* 1987; 79: 1-25.
4. de Swiet M, Fayers P, ShinebourneEA. Sistolic blood pressure in a population of infants in the first year of life: The Brompton Study. *Pediatrics* 1980; 65: 1028-1035.
5. *** Northern Neonatal Nursing Initiative. Sistolic blood pressure in babies less than 32 weeks gestation in the first year of life. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 80: F38-F42.
6. Polin R, Ditmar M. *Hypertension in Pediatric Secrets*. 3rd ed. Philadelphia: Hanley and Belfus Inc. 2001, 485-490.
7. Abman SH, Warady BA, Lum GM, Koops BL. Systemic hypertension in infants with bronchopulmonary displasia. *J Pediatr* 1984; 104: 929-931.

8. Boedy RF, Goldberg AK, Howell CG Jr, Hulse E, Edwards EG, Kanto WP. Incidence of Hypertension in infants on extracorporeal membrane oxygenation. *J Pediatr Surg* 1990; 25: 258-261.
9. Sell LL, Cullen ML, Lerner GR, Whittlesey GC, Shanley CJ, Klein MD. Hypertension during extracorporeal membrane oxygenation: cause, effect and management. *Surgery* 1987; 102: 724-730.
10. Langbaum M, Eyal FG. A practical and reliable method of measuring blood pressure in the neonate by pulse oximetry. *J Pediatr* 1994; 125: 591-595.
11. Krûger C, Rauh M, Dőrr HG. Immunoreactive renin concentration in healthy children from birth to adolescence. *Clin Chim Acta* 1998; 274: 15-27.
12. Wells TG, Bunchman TE, Kearns GL. Treatment of neonatal hypertension with enalaprilat. *J Pediatr* 1990; 117: 48-53.

NOUTĂȚI

APORTUL ULTRASONOGRAFIEI ÎN EVOCAREA REFLUXULU VEZICOURETERAL LA NOU NĂSCUT ŞI SUGAR

Un grup de radiologi din Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spania, au efectuat un studiu pentru a determina semnificatia hidronefrozei medii la nou nascut si sugar ca un indicator al refluxului vezico-ureteral (RVU). S-a evaluat uretrocistografia mictionala la 573 pacienti cu vârste între 0-18 luni, la care se detectase ultrasonografic hidronefroza medie. Au fost exclusi pacientii cu RVU secundar sau cu anomalii care faceau imposibila cuantificarea gradului de reflux. A fost luat în considerare si rinichiul normal, controlateral celui hidronefrotic. Astfel, fiecare rinichi a fost considerat separat, formând un total de 1146 unitati renale. Hidronefroza medie a fost definita ca un diametru anteroposterior al pelvisului renal de 0,5-1,5 cm, fara caliectazie. A fost utilizat International Grading System pentru clasificarea gradului de RVU. Astfel, 736 rinichi au avut hidronefroză medie. RVU a fost identificat la 189 de rinichi din aceştia 736 (25,7%) şi 108 rinichi din 410 (26,3%) risichi fără distensie hidronefrotică, controlaterali celor cu hidronefroză (p=0,806). Nu s-a găsit nicio diferenţă statistic semnificativă între frecvenţa RVU şi dilataţiile de tip hidronefrotic prezente în subgrupurile cu şi fără infecţie, cu excepţia RVU de grad înalt, frecvent în grupul cu infecţie. Frecvenţa RVU în rinichii cu dilataţie medie a avut o frecvenţă nesemnificativă faţă de cel din rinichii fără dilataţie. Se descrie, astfel, o slabă corelaţie între RVU şi hidronefroza medie. Concluzia autorilor este că hidronefroza medie, la nou născuţi şi sugari, nu este, prin simpla sa prezenţă, o recomandare pentru uretrocitografie micţională dacă pacienţii sunt asimptomatici (Berrocal T, Pinilla I, Gutiérrez J, Prieto de Pablo L, del Hoyo M-L. Mild hydronephrosis in newborns and infants: can ultrasound predict the presence of vesicoureteral reflux. *Pediatr Nephrol* 2007; 22 (1): 91-96).

Mihaela Munteanu

PROFILUL DISFUNCŢIEI ENDOTELIALE ÎN HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ. EVALUARE PRIN ECOGRAFIE VASCULARĂ

Viviana Aursulesei, Georgeta Datcu, M.D. Datcu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica I Medicală Cardiologică

PROFILE OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN ARTERIAL HYPERTENSION. VASCULAR ULTRASOUND ASSESSMENT (Abstract): Assessment of endothelial dysfunction in arterial hypertension using brachial ultrasound is a common method. Because of prognostic value of flow mediated dilation, vascular ultrasound is considered the standard noninvasive method. **Material and method**: In our study we assessed 92 hypertensive patients (very carefully selected) in a prospective and long term follow-up manner. We used the technical indications of actual guidelines. **Results**: We confirmed the importance of a complete and complex assessment of endothelial dysfunction, using different parameters. Our study demonstrated that endothelial dysfunction exists in hypertensives, has a large interindividual variability and can be improved using adequate treatment. We also proposed a new parameter - the velocity ratio, and tested the value of normalized diameter ratio, as a nonconventional variable.
Key words: ENDOTHELIAL DYSFUNCTION, ARTERIAL HYPERTENSION, VASCULAR ULTRASOUND

În hipertensiunea arterială testarea disfuncţiei endoteliale (DE) se referă în principal la aprecierea reactivităţii vasculare, adică a capacităţii de vasodilataţie dependentă de endoteliu. Deşi aceasta este condiţionată de multipli factori, majoritatea metodelor se bazează pe testarea capacităţii de eliberare a oxidului nitric (NO). În ultimii 20 de ani evaluarea DE s-a completat cu un număr mare de metode, ceea ce semnifică faptul că până în prezent nu s-a ajuns la o metodă ideală, utilizată ca test screening în practică. Ecografia vasculară de înaltă rezoluţie este tehnica cel mai mult utilizată în ciuda limitelor sale. Metoda este validată, înalt reproductibilă, noninvazivă. Valoarea ei reală derivă din observaţiile că rezultatele sunt strâns corelate cu funcţia endotelială la nivel coronarian (1) care este standardul de aur în evaluarea DE. Poate furniza deci informaţii prognostice valoroase. Principalul dezavantaj al metodei este faptul că, deşi validată, nu este standardizată, având o dependenţă înaltă de operator. Acest lucru face dificilă contrapunerea rezultatelor diverselor studii clinice, care variază semnificativ. Din acest motiv, cele două ghiduri în vigoare - ghidul grupului american de lucru (2) şi ghidul european pentru „funcţie endotelială şi DE" (3, 4) subliniază necesitatea respectării unui anumit protocol de lucru. Aceste ghiduri au apărut la o decadă după ce Celermajer pune bazele acestei metode (5).

MATERIAL ŞI METODĂ

Lotul de studiu a cuprins 92 de pacienţi cu hipertensiune arterială (HTA), selectaţi după criterii stricte care au vizat mai multe aspecte. Complianţa pacientului a fost un

criteriu de includere esenţial pentru că protocolul de urmărire a fost extins pe o perioadă de 12 luni, sub tratament în schemă fixă (inhibitor al enzimei de conversie al angiotensinei/blocant al canalelor de calciu + Indapamidă). Pentru omogenizarea lotului au fost incluşi doar pacienţi cu HTA esenţială, nou diagnosticaţi şi netrataţi sau aflaţi sub tratament antihipertensiv dar cu valori tensionale insuficient controlate (includere după o perioadă de "wash-out" de cel puţin 14 zile). În acelaşi scop studiul a cuprins pacienţi cu vârsta peste 50 de ani (femeile din lot fiind la menopauză). Un aspect extrem de important l-a constituit eliminarea unor factori de risc ca diabetul zaharat sau a condiţiilor clinice asociate care ar fi putut interfera prin ele însele sau prin medicaţia aferentă gradul de DE (manifestări ale cardiopatiei hipertensive, insuficienţă renală cronică) precum şi condiţiile improprii de examinare (obezitate gradul III, leziuni vasculare periferice în special ale axului ilio-femural).

Pentru dovedirea existenţei DE şi detaşarea influenţei *per se* a tensiunii arteriale asupra acesteia, studiul a inclus şi un lot martor de 50 de normotensivi cu vârstă medie comparabilă (HTA - 60,72±6,4 ani versus normotensivi - 59,98±7,6 ani). Fără a detalia caracteristicile lotului, menţionăm doar repartiţia pe sexe - 39 de bărbaţi (42,4%), 53 de femei (57,6%) şi caracterele HTA - severă (gradul III) în proporţie de 59,78%, în 76,08% din cazuri cu profil sistolo-diastolic, cu vechime medie pe lot de 51,6 luni (> 4 ani). Am dovedit într-un alt studiu importanţa caracteristicilor lotului, respectiv a profilului de risc cardiovascular în determinarea "nivelului" DE.

Evaluarea ecografică a DE a fost efectuată la nivelul arterei brahiale cu ajutorul unui ecograf ATL (sistem HDI 1500) cu sonda lineară de vas cu frecvenţă reglabilă de 7,5-10 MHz. Evaluarea a respectat indicaţiile ghidului american (2002) în ce priveşte pregătirea pacientului pentru eliminarea variabilităţii intraindividuale a DE cât şi metodologia de determinare. Anterior iniţierii acestui studiu, a fost testată variabilitatea intraobservator conform indicaţiilor din literatură (6,7). Coeficientul mediu de reproductibilitate pentru măsurarea parametrului standard - vasodilataţia mediată de flux (FMD) a fost de 3%. În ceea ce priveşte metodologia de examinare, nu am considerat că aceasta ar putea influenţa rezultatele studiului, deoarece a fost aplicată în mod identic în ambele loturi pe tot parcursul perioadei de urmărire (bazal, 6 şi 12 luni).

Interogarea arterei brahiale s-a efectuat în plan longitudinal deasupra fosei antecubitale, cu braţul aflat în supinaţie într-o poziţie confortabilă. S-a ales pentru analiză segmentul la care se detaşează optim interfaţa intimă-lumen vascular la nivelul pereţilor anterior şi posterior. Pentru a examina acelaşi segment în cadrul determinărilor repetate au fost alese repere anatomice fixe, de exemplu bifurcaţia arterei brahiale. Evaluarea DE comportă trei etape:

- bazală - determinarea diametrelor diastolic şi telesistolic ghidată electrocardiografic. Măsurarea a fost efectuată cu caliperi manuali cu respectarea principiului "leading-edge". Ulterior s-a determinat în Doppler pulsat velocitatea fluxului arterial brahial;
- vasodilataţia dependentă de endoteliu prin stimulare fizică - gonflarea manşetei sfigmomanonetrului plasată pe antebraţ la o presiune suprasistolică (50 mmHg peste tensiunea arterială sistolică a pacientului) timp de 5' şi degonflare bruscă. La 15" se măsoară velocitatea fluxului (hiperemie reactivă) şi a diametrului posthiperemie la 60";
- vasodilataţia independentă de endoteliu - după revenirea la valorile de repaus (în medie 10-15') prin administare de nitroglicerină (NTG) sublingual 0,4 mg. Etapa comportă măsurarea diametrului post NTG.

TABELUL I

Evoluţia comparativă a parametrilor de DE la hipertensiv şi normotensiv

Parametrul	bazal	6 luni	12 luni	Normotensiv	t-test
Ddiastolic (cm)	0,421±0,058	0,424±0,058 (+0,07%))	0,428±0,057 (+0,16%))	0,0394±0,03 (8,48%)	p = 0,003
Dsistolic (cm)	0,445±0,057	0,455±0,055 (+2,4%)	0,464±0,055 (+4,3%)	0,427±0,029 (8,7%)	p = 0,04
D (cm)	0,02±0,009	0,029±0,011 (+6,01%)	0,033±0,012 (+6,66%)	0,0065±0,02 (1%)	p <0,001
D_{NTG} (cm)	0,034±0,011	0,03±0,01 (+6,77%)	0,028±0,01 (+6,17%)	0,053±0,01 (1,86%)	p <0,001
FMD (%)	4,58±2,38	6,48±2,5 (+41,4%)	7,11±2,35 (+55,02%)	15,32±3,19 (-53,6%)	p <0,001
D_{NTG} %	14.41±5,81	15,17±5,92 (+5,34%)	15,09±6,21 (+4,78%)	17,92±3,42 (15,72%)	p <0,04
NR	0,96±0,13	0,996±0,09 (+2,83%)	0,997±0,09 (+2,98%)	1,02±0,04 (-2,75%)	p <0,001
V	2,76±1,04	3,45±1,02 (24,88+%)	3,34±1,69 (+21,01%)	3,88±1,57 (-13,82%)	p(0) <0,001 p (12)=ns

Toţi parametrii introduşi în studiu reprezintă media a cel puţin trei determinări cu valori apropiate. Înregistrarea imaginilor se face continuu pe parcursul etapelor de studiu, cu menţinerea sondei în aceeaşi poziţie.

REZULTATE

Pentru studiul DE am utilizat următoarele variabile:

1. pentru vasodilataţia dependentă de endoteliu:
   - variaţia absolută a diametrului: D hiperemie-D bazal (D);
   - FMD = [(D hiperemie-D bazal)/D bazal] x 100%.
2. pentru vasodilataţia independentă de endoteliu:
   - variaţia absolută a diametrului: D postNTG-D bazal (D_{NTG});
   - $D_{NTG(\%)}$ = [(D postNTG-D bazal)/D bazal] x 100%.

Se observă utilizarea a două tipuri de parametri - care exprimă variaţia absolută, respectiv procentuală a diametrului telesistolic al arterei brahiale, precum şi studiul ambelor componente ale DE. Modalitatea de lucru respectă indicaţia ghidurilor în vigoare pentru o evaluare completă. Ca parametri adiţionali de studiu am introdus "raportul normalizat" al diametrelor, notat NR = *Dhiperemie*/D_{NTG}. Raportul este menţionat în literatură (8) ca fiind superior în caracterizarea răspunsului vasodilatator, deoarece este redusă influenţa modificărilor de structură locală asupra funcţiei arteriale. Prin analogie cu NR, am propus utilizarea unui raport de velocităţi - V = Vmax/velocitate medie, unde velocitatea medie este media a cel puţin trei determinări bazale, iar Vmax este velocitatea posthiperemie.

Evoluţia parametrilor de lucru în cadrul lotului de hipertensivi şi comparaţia cu lotul martor de normotensivi este sintetizată mai jos (tab. I). Subliniem faptul că diferenţele au fost semnificative statistic (t-test) atât între valorile parametrilor în evoluţie cât şi între cele două loturi (diferenţa menţionată faţă de lotul martor este la finele perioadei de urmărire de 12 luni). O altă menţiune se referă la diametrele de repaus care deşi nu reprezintă parametri propriuzişi de DE, prezentarea lor este necesară pentru că din aceste variabile derivă toţi

parametrii de bază ai studiului a căror evoluţie o influenţează. În fine, analiza distribuţiei valorilor fiecărui parametru în cadrul loturilor (inclusiv pentru 50% dintre pacienţi) atestă variabilitatea interindividuală a DE, mai accentuată pentru variaţiile procentuale ale diametrelor arterei brahiale.

DISCUŢII

Prima observaţie a studiului a fost confirmarea vasodilataţiei deficitare la nivelul arterei brahiale la hipertensivi - aspect ilustrat de diferenţa semnificativă statistic a parametrilor de DE faţă de lotul martor. În ceea ce priveşte parametrii utilizaţi, studiul confirmă utilitatea caracterizării DE prin analiza valorilor absolute cât şi procentuale ale diametrelor, fiecare exprimând aspecte diferite. Astfel, variaţia procentuală a diametrelor exprimată prin FMD şi $D_{NTG\%}$ ne arată statusul vasoreactivităţii la un moment dat. Valorile şi variaţiile absolute ale diametrelor ne dau informaţii adiţionale în baza cărora putem corela funcţia cu structura vasculară. Vasul arterial are un proces de remodelare diferit în funcţie de teritoriul afectat şi de tratamentul instituit. Studiul nostru demonstrează că diametrul de repaus al hipertensivului la începutul perioadei de urmărire este mai mare decât în lotul martor (0,421 cm vs. 0,394 cm). Situaţia exprimă remodelarea caracteristică arterelor periferice mari şi anume remodelarea externă, conform cu alte observaţii experimentale şi clinice (9,10). De asemenea, evoluţia diametrului de repaus sub tratament constă în creşterea sa (0,428 cm vs. 0,421 cm), date concordante cu alte studii privind HTA tratată (11). Deşi variaţia în valori absolute este foarte mică (+ 0,007 cm), diferenţa este semnificativă statistic. Mai mult, dacă analizăm comparativ creşterea Ddiastolic şi a celui sistolic, concluzia este că variaţia în sens pozitiv a Dsistolic este net superioară în valoare absolută faţă de cea a Ddiastolic (+ 0,19 cm vs. + 0,07 cm). Deci variaţia diametrului arterei brahiale în jurul unui nivel bazal în condiţii fiziologice (la un moment dat) poate fi o măsură a capacităţii de vasodilataţie arterială. Această observaţie argumentează importanţa urmăririi variaţiilor absolute ale diametrelor (Dsistolic - Dbazal).

Al doilea aspect se referă la efectul stimulării fizice (hiperemia reactivă) şi al NTG. Din analiza valorilor absolute şi procentuale este uşor de intuit că rezultatul nu este similar. Studiul nostru sugerează că posthiperemie reactivă, răspunsul vasodilatator este inferior celui obţinut prin stimulare farmacodinamică cu NTG (+ 4,3% faţă de 7,79%) anterior iniţierii tratamentului, iar comparativ cu normotensivii, răspunsul dependent de endoteliu este net afectat, (4,3% vs. 15,31%) faţă de cel independent de endoteliu (7,79% vs. 12,45%). Acest comportament confirmă faptul că la nivelul arterei brahiale mecanismul vasodilatator nu implică numai biodisponibilitatea NO, ci şi alte căi (de exemplu hiperpolarizarea). Desigur că în comentarea tuturor variabilelor de DE nu trebuie uitat că rezultatele pot fi influenţate de gradul mare de variabilitate al DE (20-50%), cât şi de însuşi diametrul de repaus. Acest ultim aspect explică necesitatea raportării procentuale a rezultatelor prin FMD şi $D_{NTG\%}$.

FMD este parametrul consacrat de studiu al DE la nivel periferic. Observaţia cea mai importantă a fost că tratamentul ameliorează parametrul semnificativ din punct de vedere statistic (+ 2,52% la 12 luni), dar diferenţa faţă de lotul martor rămâne marcată (- 53,6%). Cu alte cuvinte, chiar în condiţiile în care hipertensivul egalează valorile tensionale ale lotului martor, el nu devine un normotensiv, ci rămâne un hipertensiv cu "profil ameliorat al DE".

Dacă răspunsul vasodilatator dependent de endoteliu este mai uniform exprimat, indiferent de modul în care l-am studiat, nu acelaşi lucru putem spune despre parametrii

vasodilataţiei independente de endoteliu, care au un comportament diferenţiat. Observaţia sugerează că acest tip de răspuns depinde în mai mare măsură decât cel dependent de endoteliu de structura vasului. O altă remarcă ar fi aceea că, în alte studii, răspunsul la NTG nu este în mod obligatoriu afectat comparativ cu lotul martor. Acest aspect ar putea fi explicat prin faptul că în lotul nostru de hipertensivi modificarea de structură a fost mai avansată. De asemenea, dacă urmărim comparativ FMD cu $D_{NTG\%}$ putem sesiza evoluţia mai lentă a $D_{NTG\%}$ ($D_{NTG\%}$ de la 14,41% la 15,09%, FMD de la 4,58% la 7,11%). Deci răspunsul vasodilatator este determinat de intervenţia unui factor corector asupra funcţiei arteriale (în acest caz tratamentul), dar evoluţia răspunsului este condiţionată de structură. Putem afirma deci că amploarea răspunsului vasodilatator dependent de endoteliu (FMD) ar fi prevăzută de amploarea reacţiei la NTG.

Un ultim aspect la care vom face referire este utilitatea unor parametri "neconvenţionali" de DE. Raportul normalizat al diametrelor (NR) este un parametru pe care l-am utilizat cu intenţia de a reuni modalităţile de răspuns ale vasului arterial. Considerăm că este un indicator util pentru studiu pentru că distribuţia sa în lot a fost mai omogenă faţă de parametrii pe care îi reprezintă iar evoluţia sa, comparativ cu normotensivul (de la - 5,56% la - 2,75%) este ilustrativă pentru intervenţia structurii vasculare asupra răspunsului vasodilatator. Aceasta demonstrează mult mai bine decât D_{NTG} şi $D_{NTG\%}$ că ameliorarea DE la nivel periferic se realizează în lot prin regresia modificărilor structurale. În ce priveşte raportul de velocităţi (V), valorile sale neajustate pentru diverşi parametri ai profilului de risc nu au adus informaţii suplimentare despre DE. Am demonstrat însă (într-un alt studiu) că acest parametru împreună cu FMD a subliniat în mod superior relaţia DE cu profilul de risc cardiovascular şi cu rigiditatea arterială.

CONCLUZII

Evaluarea DE prin ecografie vasculară este o metodă unanim acceptată şi larg utilizată pentru diverse situaţii clinice. În HTA, este necesar un protocol complex de studiu, care presupune utilizarea de parametri diverşi, fiecare cu valoare bine definită. Metodologia este utilă din cel puţin două motive:

1. DE are o accentuată variabilitate interindividuală, în ambele loturi - hipertensivi şi normotensivi - ceea ce susţine faptul că nu valorile TA condiţionează tipul de răspuns. Cu mare probabilitate, este vorba de o caracteristică a reactivităţii vasculare la om, legată de factori adiţionali. De asemenea, faptul că pentru un nivel presional dat, parametrii de DE ai hipertensivului iau valori cuprinse într-un interval larg, poate avea şi semnificaţie practică. Pacienţii cu DE mai intens exprimată, s-ar putea detaşa ca subgrupul cu risc crescut pentru evenimente cardiovasculare. Afirmaţia se bazează pe importanţa care se acordă DE testată periferic (FMD) ca marker al riscului cardiovascular. Rezultă că asemenea pacienţi ar trebui să beneficieze de sancţiuni terapeutice precoce şi agresive, independent de nivelul TA;

2. Medicaţia antihipertensivă este potenţial utilă în influenţarea DE, deci monitorizarea răspunsului la tratament prin testare repetată, în evoluţie, ar fi necesară pentru deciziile medicale (12).

BIBLIOGRAFIE

1. Neunteufl T, Heher S. Late prognostic value of flow - mediated dilatation in the brachial artery of patients with chest pain. *Am J Cardiol* 2000; 86: 207-210.
2. Corretti M, Anderson T, Benjamin E, Celermajer D, Charbonneau F, Creager M, Deanfield J. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial - dependent flow - mediated vasodilation of the brachial artery. A report of the international brachial artery reactivity task force. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 257-265.
3. Brunner H, Cockroft J, Deanfield J, Donald A. Endothelial function and dysfunction. Part II: association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the working group on endothelins and endothelial factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2005; 23: 233-246.
4. Deanfield J, Donald A, Giannattasio C. Endothelial function and dysfunction. Part I: methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the working group on endothelin and endothelial factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2002; 23: 7-17.
5. Celemajer D, Sorensen K, Gooch V, Spiegelhalter D. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111-1115
6. Bots M, Westerink J, Rabelink T. Assessment of flow - mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurements on the FMD response. *Eur Heart J* 2005; 26: 363-368.
7. Tousoulis D, Antoniades C, Stefanadis C. Evaluating endothelial function in humans: a guide to invasive and non-invasive techniques. *Heart* 2005; 91: 553-558.
8. Anderson T, Elstein E, Haber H, Charbonneau F. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (BANFF Study). *J Am Cardiol* 2000; 35: 60-66.
9. Safar M, Bouthier J, Levenson J, Simon A. Peripheral large arteries and the response to antihypertensive treatment. *J Hypertens* 1983; 5: 63-68.
10. Kiowski W, Linder L, Nuesch R, Martina B. Effects of cilazapril on vascular structure and function in essential hypertension. *J Hypertens* 1996; 27: 371-376.
11. Tellier P. Perindopril and cardiovascular remodeling. *Cardiovascular Remodeling Medicographia* 1996; 18: 50-55.
12. Kuvin J, Karas R. Clinical utility of endothelial function testing. Ready for prime time? *Circulation* 2003; 107: 3243-3247.

NOUTĂŢI

EFECTELE BENEFICE ALE ANTAGONIŞTILOR RECEPTORILOR AT1 ÎN CANCERUL DE PROSTATĂ

Blocanţii receptorilor angiotensinei II de tip 1 (AT1) sunt utilizaţi pe scară largă în tratamentul hipertensiunii arteriale. Studii recente au dovedit utilitatea blocanţilor receptorilor şi împotriva creşterii tumorale. Sakamoto M et al. au demonstrat că, prin inhibarea factorului de creştere vascular derivat din endoteliu (VEGF), candesartanul (antagonist al receptorilor AT1) reduce procesul de neoangiogeneză în metastazele pulmonare din cancerul renal şi previne cancerul de prostată hormono-refractar (Kosaka T, Miyajima A, Takayama E et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonist as an angiogenic inhibitor in prostate cancer. *Prostate* 2007; 67 (1): 41-49).

Irina Luciana Dumitriu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

EFICIENŢA INHIBITORILOR ENZIMEI DE CONVERSIE A ANGIOTENSINEI ÎN MENŢINEREA RITMULUI SINUSAL POST-CONVERSIE A FIBRILAŢIEI ATRIALE

Mihaela Grecu[1], Ramona Oana Olteanu[1], Şt.S. Olteanu[2], Cătălina Arsenescu Georgescu[2]
1 Centrul de Cardiologie Iaşi
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2 Centrul de Cardiologie

EFFICIENCY OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INHIBITORS IN THE MAINTENANCE OF SINUSAL RYTHM AFTER CONVERSION OF ARTERIAL FIBRILATION (Abstract): This study aimed to prove that angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEI) could improve sinus rhythm maintenance after electrical or chemical conversion of atrial fibrillation (AF). **Methods**: A prospective study of 36 patients with lone AF which undertook chemical or electrical conversion was conducted. Group 1 included 20 patients treated exclusively with a class I C antiarrhythmic (Propafenona, 450 mg daily) and group 2 included 16 patients treated with antiarrhythmic plus ACEI pre- and after cardioversion. **Results**: These two groups were comparable, with mean age 56.2±11.8 vs. 57.7±6.1 years (P 0.709), onset of AF 2.47±3.72 vs. 5.5±7.37 months (P 0.205) and echocardiografic parameters: left atrium diameter 45.1±5.8 vs. 45.0±6.1 mm (P 0.995); LVTDV 48.5±5.0 vs. 48.6±6.4 mm (P 0.998); LVTSV 35.1±5.0 vs. 36.0±7.0 mm (P 0.737) and EF 59.0±6.9% vs. 54.8±6.1% (P 0.135). The patients were followed up clinically and electrocardiographically 12 months after conversion. Kaplan-Meier analysis showed a higher probability of remaining in sinus rhythm one year after cardioversion for group 2 compared to group 1 (37.5% vs. 20%). The mean time interval for the appearance of recurrences was significantly higher in patients treated with ACEI and antiarrhythmics compared to the patients treated only with antiarrhythmics (7.06±1.02 vs. 4.50±0.93 months; Breslow test (generalized Wilcoxon) - 4.473, P 0.034). **Conclusion**: The addition of ACEI to an antiarrhythmic decreases the rate of AF recurrences and facilitates the maintenance of sinus rhythm after cardioversion. **Key words**: ATRIAL FIBRILATION, ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME INHIBITORS, SINUSAL RYTHM

Fibrilaţia atrială (FA) este o aritmie comună, dar dificil de tratat. Terapia antiaritmică pentru menţinerea ritmului sinusal este limitată prin eficienţa inadecvată şi potenţialele efecte adverse serioase. De aceea, există o creştere a interesului pentru abordări terapeutice noi, care să privească substratul dezvoltării fibrilaţiei atriale. Trialuri recente sugerează că inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei (IECA) şi blocantele receptorilor de angiotensină pot fi utile în particular la pacienţii cu hipertrofie ventriculară stângă (1). Deşi strategii terapeutice invazive s-au dezvoltat în ultimii ani, terapia farmacologică rămâne esenţială pentru menţinerea ritmului sinusal. Studii clinice şi experimentale au demonstrat că FA induce modificări electrofiziologice şi morfologice ale ţesutului atrial (2,3,4,5, 6,7,8,9,10,11,12). Remodelarea electrică şi

structurală a atriilor contribuie la recurenţa, persistenţa şi cronicizarea FA (12).

Se pare că sistemul renină-angiotensină-aldosteron joacă un rol important atât în remodelarea electrică precum şi în cea structurală a atriilor (13,14,15).

Studiile menţionate au inclus pacienţi cu insuficienţă cardiacă şi/sau hipertensiune arterială, ceea ce face dificil de apreciat dacă IECA contribuie la menţinerea ritmului sinusal prin efectul antiaritmic direct sau prin alt mecanism (scăderea presiunii atriale stângi consecutive îmbunătăţirii funcţiei ventriculului stâng sau scăderii presiunii arteriale). Pentru aprecierea potenţialelor efecte antiaritmice ale IECA sunt necesare studii care să includa pacienţi fără patologie cardiacă asociată. Există un singur astfel de studiu care a inclus pacienţi cu FA idiopatica paroxistică (12).

Studiul actual urmăreşte să arate că IECA pot îmbunătăţi rata de menţinere a ritmului sinusal după conversia chimică sau electrică a FA, comparând efectele pe termen lung ale propafenonei cu asocierea perindoprilului la propafenona în prevenirea recurenţelor FA la pacienţi cu FA persistentă idiopatică.

MATERIAL ŞI METODĂ

Pacienţii incluşi în studiu au fost internaţi la Centrul de Cardiologie din Iaşi în perioada ianuarie 2003 - ianuarie 2005, fiind diagnosticaţi cu fibrilaţie atriala persistentă idiopatică, a cărei conversie la ritm sinusal s-a realizat prin cardioversie electrică (o parte din pacienţi se aflau la primul episod de FA, o parte au avut recurenţe). Înainte de introducerea în studiu, pe lângă examenul clinic şi examenele paraclinice uzuale, la toţi pacienţii s-a efectuat un examen ecocardiografic transtoracic, fiind măsurate diametrele telediastolic şi telesistolic ale ventriculului stâng (VS), diametrul atriului stâng, grosimea peretelui posterior şi a septului interventricular şi fracţia de ejecţie a VS. De asemenea, s-au realizat teste pentru evaluarea funcţiilor hepatică, renală şi tiroidiană.

Criteriile de excludere au fost: vârsta > 65 ani, hipertensiunea arterială şi orice boală structurală cardiacă, afecţiuni pulmonare sau hepatice, insuficienţă renală (nivelul creatininei > 177 μg/l), modificări electrolitice, diabet zaharat sau disfuncţie tiroidiană, boala de nod sinusal, tratamentul anterior cu IECA.

Au fost incluşi în studiu 36 de pacienţi cu fibrilaţie atrială persistentă redusă electric, fiind împărţiţi în două grupuri: grupul 1 format din 20 pacienţi trataţi exclusiv cu un antiaritmic (Propafenona, 450 mg/zi) şi grupul 2 care, pe lângă medicaţia antiaritmică, au primit un IECA (Perindopril, 4 mg/zi). Pentru a evita apariţia hipotensiunii, doza de perindopril a fost de 2 mg/zi în primele 3 zile, doza fiind crescută ulterior dacă nu a apărut hipotensiunea arterială.

Toţi pacienţii au fost urmăriţi la 1 luna, 3 luni, 6 luni, 12 luni, prin examen fizic si electrocardiograma, iar pacienţilor li s-a indicat să consulte imediat medicul în cazul reapariţiei palpitaţiilor.

Metode statistice

Pentru comparare s-a realizat prelucrarea datelor cu ajutorul aplicaţiei SPSS (versiunea 12.00, Chicago, IL, USA). Pentru variabilele cantitative am folosit testul t-Student pentru două eşantioane independente sau Mann-Whitney U, iar pentru variabilele calitative testul chi pătrat (χ^2) sau acelaşi Mann-Whitney U. Analiza de supravieţuire Kaplan-Meier a fost folosită pentru a estima probabilitatea apariţiei recurenţelor FA în cele 2 grupuri (testul Breslow sau Wilcoxon generalizat).

Cele 2 loturi au fost comparabile statistic din punctul de vedere al caracteristicilor clinice (vârsta, sex, indice de masă corporală, vechimea episodului, vechimea bolii)(tab. I) şi paraclinice (tab. II).

Între parametrii ecografici cercetaţi, diametrele telediastolic şi telesistolic ale ventriculului stâng, fracţia de ejecţie a ventriculului stâng, diametrul atriului stâng nu au existat diferenţe semnificative statistic.

TABELUL I

Caracteristicile clinice; date prezentate sub forma „medie ± deviaţie standard, M - sex masculin, IMC - indice de masă corporală

Variabila	Grup I	Grup II	P
Număr pacienţi	20	16	
Vârsta	56,2±11,8	57,7±6,1	0,709
Sex (M)	11	9	0,941
IMC(kg/m^2)	23,8±7,2	22,5±4,6	0,535
Displidemie	9	7	0,941
Vechimea episodului (luni)	2,5±3,7	5,5±7,4	0,205
Vechimea bolii (luni)	56,3±52,0	44,9±41,2	0,480

TABELUL II

Caracteristicile paraclinice; date prezentate sub formă de „medie ± deviaţie standard, ICT - indice cardio toracic, AS - atriul stâng, DTDVS - diametrul telediastolic al ventriculului stâng, DTSVS - diametrul telesistolic al ventriculului stâng, FE - fracţie de ejecţie

Variabila	Grup I	Grup II	P
ICT	0,49±0,04	0,49±0,03	0,291
Diametrul AS (mm)	45,1±5,8	45,0±6,1	0,995
DTDVS (mm)	48,5±5,0	48,6±6,4	0,998
DTSVS (mm)	35,1±5,0	36,0±7,0	0,737
FE (%)	59,0±6,95	54,8±6,1	0,135

OBIECTIVE PRIMARE

Am urmărit să arătam că IECA pot îmbunătăţi rata de menţinere a ritmului sinusal după conversia FA, prin determinarea intervalului de timp până la confirmarea recurenţei FA şi prin aprecierea ratei recurenţelor FA la un an dupa cardioversie.

REZULTATE

În urma analizei datelor, am arătat o reducere importantă a recurenţelor FA în grupul tratat cu IECA faţă de cel tratat doar cu antiaritmic (după 12 luni, 20% din pacienţii din grupul 1 se aflau în ritm sinusal, comparativ cu 37,5 % în grupul 2), deşi aceasta diferenţă nu a fost semnificativă statistic, datorită numărului relativ redus de pacienţi incluşi în studiu.

Pentru estimarea probabilităţii apariţiei recurenţelor FA în cele două grupuri, s-a folosit analiza de supravieţuire Kaplan-Meier, în urma căreia a reieşit că perioada medie de apariţie a recurenţelor în cazul pacienţilor trataţi cu antiaritmic şi IECA a fost semnificativ mai mare decât în cazul pacienţilor trataţi doar cu antiaritmic (grupul 1 - 7,06 ± 1,02 luni; grupul 2 - 4,50 ± 0,93 luni; testul Breslow (Wilcoxon generalizat) are valoarea 4,473 şi P 0,034) (fig. 1).

DISCUŢII

Rolul IECA în reducerea riscului apariţiei sau recurenţei FA a fost recent investigat în studii similare, care însă au inclus pacienţi cu patologie cardiacă asociată. Un studiu retrospectiv (Pedersen) a analizat efectele IECA în ceea ce priveşte apariţia FA pe 1577 pacienţi în ritm sinusal cu fracţie de ejecţie < 35% post - infarct miocardic, pe o perioada de 2 - 4 ani. IECA au redus incidenţa FA de la 5,3% la 2,8% (16). Un alt studiu care a inclus 391 pacienţi (Vermes) cu insuficienţă cardiacă a arătat că grupul care a primit tratament cu IECA a

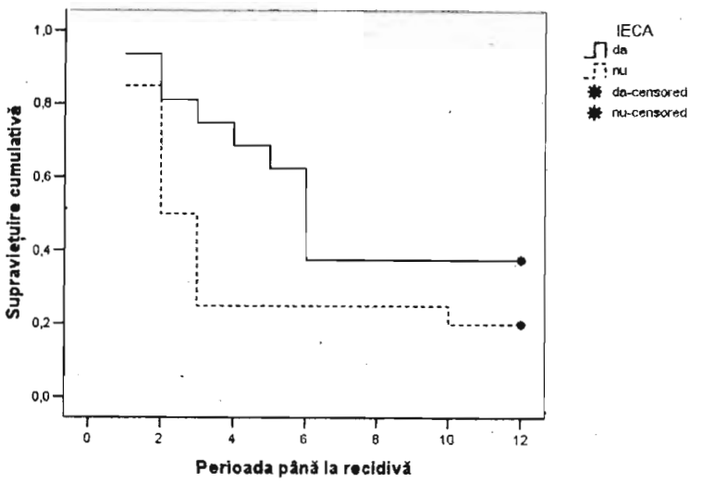


Fig. 1. Analiza Kaplan Meier - funcţia de supravieţuire

avut o reducere a apariţiei unui episod de FA pe o perioada de urmărire de 3 ani de la 24% la 5,4% (17). Rezultatele a două studii randomizate prospective arată că adăugarea enalaprilului/ irbesartanului la amiodaronă este eficientă în menţinerea ritmului sinusal la pacienţii cu FA persistentă redusă prin cardioversie (18,19).

Faptul că în studiile menţionate au fost incluşi pacienţi cu disfuncţie ventriculară stângă şi/ sau hipertensiune arterială face dificil de apreciat efectele IECA: îmbunătăţirea funcţiei ventriculare stângi, scăderea presiunii arteriale sau efectul antiaritmic direct.

Prin includerea în studiul actual doar a pacienţilor cu FA idiopatică, rezultatele aduc dovezi în ceea ce priveşte efectul antiaritmic direct al IECA.

Singurul studiu din literatura care a inclus 177 pacienţi cu FA idiopatică paroxistică a arătat că adăugarea perindoprilului/ losartanului la amiodaronă este mai eficientă decât amiodarona singură în prevenirea recurenţelor FA (19% vs. 24% vs 41%, $P<0,05$)(12).

Inhibarea sistemului renină-angiotensină-aldosteron ar putea preveni debutul sau menţinerea FA prin câteva mecanisme: scăderea presiunii atriale şi stresului parietal; prevenirea remodelării structurale (fibroză, dilatare şi hipertrofie) atât la nivelul atriului stâng cât şi ventriculului stâng; inhibarea activităţii neuro-umorale; reducerea presiunii arteriale (20).

LIMITELE STUDIULUI

Prima limită este dată de mărimea lotului, ceea ce face ca diferenţa importantă dintre rata recurenţelor FA în cele două grupuri să nu fie semnificativă statistic. Cea de-a doua ar fi că administrarea drogului nu a fost realizată în manieră randomizată. Selecţia lotului tratat cu IECA ca adjuvant la medicaţia antiaritmică s-a realizat prospectiv, dar a fost comparat cu grupul tratat doar cu antiaritmic analizat retrospectiv.

CONCLUZII

Rezultatele acestui studiu arată că tratamentul adjuvant cu IECA la medicaţia antiaritmică facilitează menţinerea ritmului sinusal după cardioversie, IECA reduc rata recurenţelor FA, efect sugerat şi de alte studii clinice şi experimentale mari.

Prin includerea doar a pacienţilor cu FA

idiopatică, rezultatele studiului au arătat acţiunea directă antiaritmică a IECA, probabil prin efectul asupra remodelării atriale şi a activităţii simpatolitice.

În lumina acestor studii, se pare că asocierea medicamentelor ce determină regresia remodelării atriale la antiaritmicele uzuale are un efect benefic în prevenirea FA. În prezent cei mai promiţători agenţi sunt inhibitorii enzimei de conversie a angiotensinei si inhibitorii receptorilor de angiotensină. Există un interes crescut în ceea ce priveşte terapia non-antiaritmică drept adjuvant la medicaţia antiaritmică clasică, însă trialuri mari prospective sunt necesare înainte de a certifica faptul că IECA pot reprezenta o noua componentă a terapiei FA.

BIBLIOGRAFIE

1. Ehrlich JR, Hohnloser SH, Nattel S. Role of angiotensin system and effects of its inhibition in atrial fibrillation: clinical and experimental evidence. *Eur Heart J* 2006; 27: 512-518.
2. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Allessie MA. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation. A study in awake chronically instrumented goats. *Circulation* 1995; 92: 1954-1968.
3. Goette A, Honeycutt C, Langberg JJ. Electrical remodeling in atrial fibrillation. Time course and mechanisms. *Circulation* 1996; 94: 2968-2974.
4. Tieleman RG, De Langen OC, Van Gelder IC et al. Verapamil reduces tachycardia-induced electrical remodeling of the atria. *Circulation* 1997; 95: 1945-1953.
5. Wijffels MC, Kirchhof CJ, Dorland R, Power J, Allessie MA. Electrical remodeling due to atrial fibrillation in chronically instrumented conscious goats: roles of neurohumoral changes, ischemia, atrial stretch, and high rate of electrical activation. *Circulation* 1997; 96: 3710-3720.
6. Tieleman RG, Van Gelder IC, Crijns HJ et al. Early recurrences of atrial fibrillation after electrical cardioversion: a result of fibrillation-induced electrical remodeling of the atria? *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 167-173.
7. Ausma J, Wijffels M, Thone F et al. Structural changes of atrial myocardium due to sustained atrial fibrillation in the goat. *Circulation* 1997; 96: 3157-3163.
8. Mary-Rabine L, Albert A, Pham TD et al. The relationship of human atrial cellular electrophysiology to clinical function and ultrastructure. *Circ Res* 1983; 52: 188-199.
9. Kistler PM, Sanders P, Fynn SP et al. Electrophysiologic and electroanatomic changes in the human atrium associated with age. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 109-116.
10. Frustaci A, Chimenti C, Bellocci F et al. Histological substrate of atrial biopsies in patients with lone atrial fibrillation. *Circulation* 1997; 96: 1180-1184.
11. Brundel BJ, Ausma J, van Gelder IC et al. Activation of proteolysis by calpains and structural changes in human paroxysmal and persistent atrial fibrillation. *Cardiovasc Res* 2002; 54: 380-389.
12. Yin Y, Dalal D, Liu Z et al. Prospective randomized study comparing amiodarone vs. amiodarone plus losartan vs. amiodarone plus perindopril for the prevention of atrial fibrillation recurrence in patients with lone paroxysmal atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2006; 27: 1841-1846.
13. Nakashima H, Kumagai K, Urata H et al. Angiotensin II antagonist prevents electrical remodeling in atrial fibrillation. *Circulation* 2000; 101: 2612-2617.
14. Goette A, Staack T, Rocken C et al. Increased expression of extracellular signal-regulated kinase and angiotensin-converting enzyme in human atria during atrial fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1669-1677.
15. Goette A, Arndt M, Rocken C et al. Regulation of angiotensin II receptor subtypes during atrial fibrillation in humans. *Circulation* 2000; 101: 2678-2681.
16. Pedersen OD, Bagger H, Kober L, Torp-Pedersen C. Trandolapril reduces the incidence of atrial fibrillation after acute myocardial infarction in patients with left ventricular dysfunction. *Circulation* 1999; 100: 376-380.

17. Vermes E, Tardif JC, Bourassa MG et al. Enalapril decreases the incidence of atrial fibrillation in patients with left ventricular dysfunction: insight from the Studies Of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) trials. *Circulation* 2003; 107: 2926-2931.
18. Madrid AH, Bueno MG, Rebollo JM et al. Use of irbesartan to maintain sinus rhythm in patients with long-lasting persistent atrial fibrillation: a prospective and randomized study. *Circulation* 2002; 106: 331-336.
19. Ueng KC, Tsai TP, Yu WC et al. Use of enalapril to facilitate sinus rhythm maintenance after external cardioversion of long-standing persistent atrial fibrillation. Results of a prospective and controlled study. *Eur Heart J* 2003; 24: 2090-2098.
20. *** ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation-executive summary: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2001 Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation) Developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *Eur Heart J* 2006; 27: 1979-2030.

NOUTĂŢI

UTILITATEA MYCOFENOLATULUI MOFETIL ÎN TRATAMENTUL SINDROMULUI NEFROTIC CORTICO-DEPENDENT

Cyclosporina A (CsA) a „salvat" copiii cu sindrom nefrotic cortico-dependent de toxicitatea cortizonului. Totuşi, majoritatea pacienţilor prezintă frecvent recădere când CsA este întreruptă, ceea ce are drept consecinţă nefropatia la CsA prin utilizarea acesteia pe termen lung. Autorii îşi propun să evalueze eficacitatea tratamentului cu mycofenolatului mofetil (MMF) şi utilizează un lot de 12 copii cu sindrom nefrotic cortico-dependent idiopatic care primiseră terapie cu CsA pe termen lung şi care au fost apoi trataţi cu MMF pentru cel puţin 6 luni. Durata medie de urmărire după începerea tratamentului cu MMF a fost de 11 luni (limite între 6-42). Doza medie de MMF a fost de 610 ± 95 mg/m^2/12 ore, doză capabilă să menţină o concentraţie serică de $2,4 \pm 1,1$ mcg/ml a acidului mycofenolic (C0-MPA), premergător administrării dozei de MMF. Tratamentul cu MMF a condus la scăderea dozelor de CsA de la $3,5 \pm 1,3$ la $1,5 \pm 2,4$ mg/kg/zi ($p < 0,01$) şi a dozei medii de prednisolon de la $0,29 \pm 0,16$ la $0,21 \pm 0,11$ mg/kg/la ($p < 0,05$). Nouă din 12 pacienţi (75%) au putut, în final, să fie înţărcaţi de la CsA. Rata medie a recăderilor a scăzut de la $7 \pm 1,6$ la $0,6 \pm 0,9$ episoade/an ($p < 0,01$). Raportul recădere - remisiune a fost mai mic la pacienţii la care C0-MPA a fost mai mic decât 2 mcg/ml ($p < 0,05$). Experienţa autorilor a demonstrat că terapia cu MMF conduce la scăderea semnificativă a dozelor de CsA şi/sau scăderea dozelor de prednisolon, precum şi la reducerea ratei recăderilor la copiii cu sindrom nefrotic cortico-dependent (Fujinaga S, Ohtomo Y, Umino D et al. A prospective study on the use of mycophenolate mofetil in children with cyclosporine-dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2007; 22 (1): 71-76).

Mihaela Munteanu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

PREGNANCY AND INFLAMMATORY BOWEL DISEASE: A PROSPECTIVE CASE-CONTROL STUDY

G. Malgarinos[1], A. Gikas[2], Evi Delicha[1], Asteria Stamataki[1], F. Georgopoulos[1], A. Papadimitriou[3], C. Stanciu[4], J.K. Triantafillidis[1]
"Saint Panteleimon" General State Hospital Nikea
1 Department of Gastroenterology
3 Department of Obstetrics & Gynecology
2 Health Centre of Salamis
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
4 Institute of Gastroenterology and Hepatology

PREGNANCY AND INFLAMMATORY BOWEL DISEASE: A PROSPECTIVE CASE-CONTROL STUDY (Abstract): **Objective**: Taking into account the relative confusion in the literature concerning the influence of pregnancy on the underlying inflammatory bowel disease (IBD) and vice versa, as well as the influence of drugs on the foetus and the gestation itself, we performed this prospective study, in order to further elucidate this interesting topic. **Patients and methods**: Prospective follow-up study of 9 pregnant women with previously established IBD, 4 with ulcerative colitis (UC) and 5 with Crohn's disease (CD). Results were compared to those of 9 non-pregnant women with IBD with similar clinico-demographic characteristics (disease control grup), and 18 healthy pregnanat women (healthy control group). **Results**: a) *Patients with IBD and gestation vs healthy control group*: Significantly impaired body weight in newborns from IBD mothers compared to healthy women ($2,530 \pm 961$ g *vs* $3,242 \pm 582$ g, $P=0.035$) was found. Significantly more cases of therapeutic or spontaneous abortion and premature delivery in pregnant women with IBD compared to healthy pregnant women [5/9(56.6%) vs 1/18 (5.6%), $P=0.008$] were also noticed. Concerning drug consumption, it was noticed that azathioprine was taken regularly in one case of spontaneous abortion and in one case of premature delivery. No significant differences concerning other parameters such as smoking habit and death of foetus were observed. b) *Patients with IBD and gestation vs patients with IBD without gestation*: No significant differences in the history of various parameters of the disease (number of operations, presence of fistulas), previous gestations, and course of the disease during the period of gestation were found. c) *Course of the disease six months after delivery*: No significant differences between patients with IBD and pregnancy and disease control group were noticed. **Conclusion**: It is concluded that gestation in women with IBD is accompanied by some unwanted events such as premature delivery, therapeutic or spontaneous abortion, and reduced newborn body weight. Clinicians must bear in mind the possibility of the appearance of some unwanted events in pregnant women with IBD during their gestation. **Key words**: PREGNANCY, INFLAMMATORY BOWEL DISEASE, CROHN'S DISEASE, ULCERATIVE COLITIS

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory bowel disease (IBD). The onset peaks at age 15-30 years and coincides with the reproductive period (1). Overall, around 25% of women with IBD will conceive during their disease and most of them will have a normal pregnancy and healthy children (2). However, specific problems may arise re-

lated to these pregnancies.

Crohn's disease (CD) also affects women of childbearing age (3). Available data on CD and pregnancy suggest that women with CD can expect to conceive successfully, and carry to term and deliver a healthy baby (4) although data from different countries do not completely agree with this assumption (5).

It is a common sense that young couples are often concerned about the potential effects of IBD on fertility, pregnancy, and the foetus.

Taking into account the relative confusion in the literature regarding the influence of pregnancy on the underlying IBD and vice versa, as well as the possible influence of drugs on the foetus and the gestation itself, we performed this prospective study in order to further elucidate this interesting subject.

PATIENTS AND METHODS

We prospectively studied 9 women with IBD aged 33.4 ± 3.4 years (4 with UC and 5 with CD), who became pregnant during the course of their disease. In seven of them the underlying IBD was quiescent at the beginning of gestation and in two the disease was chronically active. Drugs consumed during gestation were: mesalazine 4 patients, mesalazine, infliximab and azathioprine 1 patient, concurrently mesalazine, steroids and antibiotics 1 patient, azathioprine and metronidazole 1 patient and without treatment 2 patients. Eighteen healthy pregnant women matched for age (31.7 ± 2.4 years), and 9 non-pregnant women with IBD matched for age (33 ± 2.4 years) as well as for the type, extent and duration of disease, were served as control groups. Smoking habits, duration of gestation, outcome of IBD, mode of delivery, demographic characteristics of newborn, and the presence of congenital abnormalities, were carefully recorded in both, IBD patients and the healthy control group. The clinical course of women with IBD and pregnancy and women with IBD without pregnancy was also evaluated for further six months after delivery.

For statistical analysis, Fisher's exact test and Student's t-test were used.

RESULTS

a) Comparisons between the group of pregnant women with IBD and the group of normal pregnant women

Smoking habits

The proportion of smokers among the pregnant women with IBD was 33% compared with 11% in the group of normal pregnant women *(P=0.295)*.

Body weight of newborn

Significant differences between the two groups concerning the body weight of the newborn were noticed (2,530 ± 961g *vs* 3,242 ± 582g, *P=0.035*).

Outcome of pregnancy

Significant differences between the two groups were noticed as far as the outcome of pregnancy (at term and preterm delivery) was concerned (Table I).

Drug consumption

Azathioprine was taken in one case with abortion (abruption of placenta) and in one case of preterm (36th week) delivery.

Mode of delivery

No significant differences in the mode of delivery (vaginal or caesarean) between the two groups were noticed [5/7(71%) *vs* 14/18(78%)].

Sex of the newborn

There were 4 male (57%) and 3 female (43%) newborns in the group of pregnant IBD women *versus* 11 male (61%) and 7 female (39%) newborns in the group of normal women.

Death of newborn

No deaths were noticed in both groups (excluding 2 abortions in the group of pregnant women with IBD).

TABLE I
Outcome of pregnancy

Group	Abnormal gestation (Abortion or preterm delivery)	At term delivery
IBD with gestation	(*)5/9 (55,6%)	4/9 (44,4%)
Normal women	1/18 (5,6%)	17/18 (94,4%)

(P=0.008) (*) Including 1 case of therapeutic and 1 of spontaneous abortion

b) Comparisons between the group of pregnant IBD women and the group of nonpregnant IBD women

Smoking habits

No significant differences among pregnant women with IBD and non-pregnant women regarding the proportion of current smokers was found [3/9 (33%) *vs* 6/9 (67%), *P=0.347*].

Fistulizing disease

No significant differences among pregnant women with IBD and non-pregnant women with IBD as far as the proportion of fistulizing disease was concerned [2/9 (22%) *vs* 0/9)0%), *P=0.471*].

Previous surgery

No significant differences among pregnant women with IBD and non-pregnant women with IBD were noticed, as far as the percentage of patients with previous surgery was concerned (2/9 *vs* 2/9, *P=1.000*).

Body Mass Index

No significant differences between the two groups were found, as far as the body mass index was concerned (21.2+/-1.7 *vs* 25.6+/-5.9, *P=0.114*).

IBD outcome during gestation

The course of the disease in the group of pregnant IBD women was not negatively influenced by the gestation itself. So, among the 7 women with IBD being on remission at the beginning of gestation, 6 remained so during the whole period of observation and only 1 relapsed; the other 2 women were in chronically active stage and remained so. As it is shown in Table II, similar course of disease in the disease control group during the follow-up period (first 9 months) was noticed.

Outcome of IBD 6 months after delivery

No significant differences in the outcome of IBD 6 months after delivery between the two groups were noticed (remission - remission, remission - relapse, relapse - remains active, chronically active disease, and chronically active disease - remission) (Table III).

DISCUSSION

The results of the present study showed that pregnancy in Greek women with IBD is accompanied by some unwanted events,

TABLE II
Outcome of IBD during gestation

Group	Remission-Remission	Remission-Relapse	Relapse-Remission	Relapse-Remains active	Chronically active-Remission	Chronically active
IBD with gestation	6/9 (66.7%)	1/9 (11.1%)	0/9 (0%)	0/9 (0%)	0/9 (0%)	2/9 (22.2%)
IBD without gestation	4/9 (44.4%)	0/9 (0%)	3/9 (33.3%)	0/9 (0%)	0/9 (0%)	2/9 (22.2%)

(P=0.22)(No significant differences)

TABLE III
Outcome of IBD six months after delivery

Group	Remission-Remission	Remission-Relapse	Relapse-Remission	Relapse-Remains active	Chronically active-Remission	Chronically active
IBD with gestation	5/9 (55.6%)	1/9 (11.1%)	0/9 (0%)	1/9 (11.1%)	1/9 (11.1%)	1/9 (11.1%)
IBD without gestation	7/9 (77.8%)	0/9 (0%)	0/9 (0%)	0/9 (0%)	0/9 (0%)	2/9 (22.2%)

(P=0.45) (No significant differences)

including reduced body weight of the newborn and abnormal gestation (preterm delivery and spontaneous abortion).

Our results are in accordance with other studies from developed countries of Europe and North America (6,7,8). In a recently published multicenter, multinational study referring to 173 female UC and 93 CD patients, the rate of spontaneous abortion and of caesarean section increased after IBD was diagnosed (6.5% *vs* 13%, *P=0.005* and 8.1% *vs* 28.7% of pregnancies, respectively) (6). Similar to our results were described in another study according of which, maternal IBD was associated with increased odds of preterm delivery, and low birth weight (7). In a case-control study of 116 singleton pregnancies with IBD compared to 56.398 singleton controls it was found that IBD was associated with an increased risk for labor induction, chorioamnionitis and caesarean section, but there were no differences in neonatal outcomes (8). In the same study subgroup analysis demonstrated an increased risk for low birth weight in the UC group *vs* the CD group (8).

As far as incidence of congenital abnormalities appearing in children born to women with UC was concerned, no significantly increased overall risk was noticed in a Hungarian study, although an increased risk of some selected abnormalities including limb deficiencies and obstructive urinary congenital abnormalities, was noticed (9). In our study no apparent congenital abnormality was ascertained.

Significant proportion of patients with IBD receives one or more drugs as a maintenance treatment. In a relevant study it was reported that 48.6% of the patients took medication at the time of conception and 46,9% during pregnancy (6). The drugs that are in use as a maintenance treatment include sulfasalazine and mesalazine, antibiotics (metronidazole and ciprofloxacine) corticosteroids (including the newer ones), immunosuppressives (azathioprine, 6-mercaptopurine, methotrexate and cyclosporine) and biologic agents (infliximab). In our patients it was found that the use of mesalazine, corticosteroids, and antibiotics was safe, while the use of azathioprine was accompanied by a premature delivery in one patient and spontaneous abortion in another one.

Despite this finding, the available data concerning the safety of these drugs are in favour of the assumption that all of them including immunosuppressives and biologic agents are of no significant risk for the patient or the mother. In 113 female patients with 207 conceptions none of the drugs used to treat IBD (mesalazine, antibiotics, corticosteroids and immunosuppressives) was associated with poor pregnancy outcomes (10).

Concerning sulfasazine and its derivate (mesalazine, 5-aminosalicylic acid), the first line drugs used in the treatment of IBD, no significantly increased prevalence of congenital abnormalities in the children of women treated with sulfasalazine during pregnancy was found (11). However, in another study, an increased risk of stillbirth and preterm birth in women who had been prescribed mesalazine during pregnancy but no substantial increased risk of malformations was noticed[12]. According to the authors of the paper, it was difficult to distinguish the specific effects of disease activity and mesalazine use (12). In our series no increased risk for congenital abnormalities or side-effects on the foetus were noticed. So, sulfasalazine and its derivates appeared to be safe during pregnancy.

Concerning the use of immunosuppressives during pregnancy, their use is believed to be relatively safe. In a study, examining the intrauterine exposure to maternal azathioprine in three patients with CD and autoimmune hepatitis, treated with azathioprine throughout all trimesters of their pregnancies, it was found that thiopurine metabolites (6-thioguanine nucleotides and 6-methylmercaptopurine) concentration was slightly lower in the red blood cells of the infant than the mother. The authors concluded that the placenta forms a barrier to azathioprine and its metabolites (13) and this could be of value regarding the possible toxicity of the drug in the foetus. In a large study, 6-MP use before, at conception, or during pregnancy, appeared to be safe. The authors concluded that discontinuation of the drug before and during pregnancy is not indicated (14). However, in another study referring to Danish patients, an increased risk of congenital malformations, perinatal motality and pre-term birth in children born to women treated with azathioprine or mercaptopurine during pregnancy, was found (15). In our series use of azathioprine was associated with unwanted effects in two patients. So, taking into account the conflicting – in some way – data of the international literature, we can assume that azathioprine during gestation must be used with caution, especially in the first trimester.

Biologic agents are used with increased frequency in the treatment of both active UC and CD. In a study involving ten pregnant women with IBD, eight of them received maintenance infliximab infusions throughout their pregnancy and two received their initial infliximab infusions during pregnancy. No infants developed congenital malformations, or intrauterine growth retardation (16). In another study involving 96 pregnant women with IBD, directly exposed to infliximab treatment, live births occured in 67%, and miscarriages in 15%. Therapeutic termination of gestation was applied in 19% of the pregnancies, proportion that is similar to that expected for the general U.S. population of pregnant women or pregnant women with CD not exposed to infliximab (17). One of our patients received infliximab during gestation (a patient with CD and premature delivery). So, regarding the use of infliximab during pregnancy, we have to consider the benefits of the drug in achieving response and maintaining remission and on the other hand the risks of exposing the foetus to the drug.

In a recently published large study in which the authors examined the rate of relapse in the subsequent years after delivery, it was found that the rate of relapse decreased in both ulcerative colitis and CD patients[6]. We did not notice any significant influence of pregnancy on disease course; however, the small sample size offers limited power for the generalization of the particular finding.

In a very recently published metaanalysis (18) combining studies reporting on pregnancy outcomes related to IBD during a 26-years period, concerning 12 studies comprising a total of 3907 patients with IBD and 320,531 controls, the authors found that women with IBD had a 1.87-fold increase in incidence of prematurity (<37

weeks' gestation) and more than double the incidence of low birth weight. Women with IBD were 1.5 times more likely to undergo caesarean delivery and had a 2.37-fold increased risk for congenital abnormalities. Moreover, women with IBD who became pregnant were at a higher risk for premature birth, low birth weight and caesarean delivery, whereas risks for stillbirth, small for gestational age, and congenital abnormalities were not significantly increased. CD, but not UC, was associated with an increased risk for low birth weight and caesarean delivery. Finally UC was associated with an increased risk for premature birth and congenital abnormalities (18). Our results are in complete accordance with the results obtained in this metaanalysis.

CONCLUSION

from the results of this prospective study and the review of the available data of the international literature, we can assume that the course of gestation in women with IBD is favorable. However, some unwanted effects such as premature delivery, spontaneous abortion and reduced body weight of the newborn can be expected. On the other hand, the course of the underlying inflammatory bowel disease remains unchanged if IBD is quiescent at the beginning of gestation. These results could be of value in women with IBD wishing and planning to be pregnant.

REFERENCES

1. Triantafillidis JK, Emmanouilidis A, Manousos ON et al. Ulcerative colitis in Greece: clinico-epidemiological data, course and prognostic factors in 413 consecutive patients. *J Clin Gastroenterol* 1998; 27: 204-210.
2. Sela HY, Rojansky N, Hershko AY. Reproduction and ulcerative colitis: a review. *J Reprod Med* 2005; 50: 361-366.
3. Triantafillidis JK, Emmanouilidis A, Manousos O, Nicolakis D, Kogevinas M. Clinical patterns of Crohn's disease in Greece: a follow-up study of 155 cases. *Digestion* 2000; 61: 121-128.
4. Agret F, Cosnes J, Hassani Z, Gornet JM, Gendre JP, Lemann M, Beaugerie L. Impact of pregnancy on the clinical activity of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 509-513.
5. Katz JA. Pregnancy and inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2004; 20: 328-332.
6. Riis L, Vind I, Politi P, Wolters F et al. Does pregnancy change the disease course? A study in a European cohort of patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1539-1545.
7. Dominitz JA, Young JC, Boyko EJ. Outcomes of infants born to mothers with inflammatory bowel disease: a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 641-648.
8. Bush MC, Patel S, Lapinski RH, Stone JL. Perinatal outcomes in inflammatory bowel disease. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004; 15: 237-241.
9. Norgard B, Puho E, Pedersen L, Czeizel AE, Sorensen HT. Risk of congenital abnormalities in children born to women with ulcerative colitis: a population-based, case -control study. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2006-2010.
10. Moskovitz DN, Bodian C, Chapman ML, Marion JF, Rubin PH, Scherl E, Present DH. The effect on the fetus of medications used to treat pregnant inflammatory bowel-disease patients. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 656-661.
11. Norgard B, Czeizel AE, Rockenbauer M, Olsen J, Sorensen HT. Population-based case control study of the safety of sulfasalazine use during pregnancy. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 483-486.
12. Norgard B, Fonager K, Pedersen L, Jacobsen BA, Sorensen HT. Birth outcome in women exposed to 5-aminosalicylic acid during pregnancy: a Danish cohort study. *Gut* 2003; 52: 243-247.

13. deBoer NK, Jardandhan SV, deGraaf P, Mulde CJ, Van Elburg RM, Van Bodegraven AA. Azathioprine use during pregnancy: unexpected intrauterine exposure to metabolities. *AM J Gastroenterol* 2006; 101: 1390-1392.
14. Francella A, Dyan A, Bodian C, Rubin P, Chapman M, Present DH. The safety of 6-mercaptopourine for childbearing patients with inflammatory bowel disease: a retrospective cohort study. *Gastroenterology* 2003; 124: 9-17.
15. Norgard B, Pedersen L, Fonager K, Rasmussen SN, Sorensen HT. Azathioprine, mercaptopurine and birth outcome: a population-based cohort study. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 827-834.
16. Mahadevan U, Kane S, Sandborn WJ et al. Intentional infliximab use during pregnancy for induction or maintenance of remission in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 733-738.
17. Katz JA, Antoni C, Keenan GF, Smith DE, Jacobs SJ, Lichtenstein GR. Outcome of pregnancy in women receiving infliximab for the treatment of Crohn's disease and rheumatoid arthritis. *AM J Gastroenterol* 2004; 99: 2385-2392.
18. Cornish JA, Tan EK, Teare TG et al. A metanalysis on the influence of inflammatory bowel disease on pregnancy. *Gut* 2006; Dec 21.

NOUTĂŢI

CELULELE UMANE POSTNATALE ALE PULPEI DENTARE SE CODIFERENŢIAZĂ ÎN OSTEOBLAŞTI ŞI ENDOTELIOCITE

Celulele stromale din pulpa dentară umană au fost utilizate pentru a studia diferenţierea osteogenică *in vitro* şi *in vivo*. S-a semnalat deja faptul că celulele stromale din pulpa dentară sunt celule stem pluripotente, capabile să se diferenţieze în osteoblaste, care vor sintetiza o retea tridimensională de ţesut osos *in vitro*.Utilizând markeri specifici pentru celulele stromale pulpare s-a evidenţiat că atunci când se diferenţiază în osteoblaste, aceste celule exprimă, pe lângă osteocalcină şi flk-1(VEGF-R2). În plus, 30% din celule exprimă antigene specifice pentru celulele endoteliale, incluzând CD54, von Willebrand, CD31(PECAM-1), precum şi enzima de conversie a angiotensinogenului. Endoteliocitele formează pereţii vaselor, iar celulele stem se diferenţiază sinergic în osteoblaşti şi endoteliocite, în timp ce flk-1 exercită un rol esenţial în cuplarea diferenţierii osteoblaştilor şi celulelor endoteliale. Când celulele stromale pulpare sau fragmente de reţele de ţesut osos obţinute *in vitro* au fost transplantate la şoareci cu sistemul imun compromis, ele au generat o structură tisulară cu un aport sanguin similar celui al osului adult (de fapt, un mare număr de vase HLA-1+ au fost observate în os sau într-un strat periostic). Osteogeneza şi angiogeneza mediate de celulele stromale pot fi reglate prin mecanisme distincte, care conduc la organizarea de ţesut osos adult, după un transplant de celule stem (d'Aquino R., Graziano A, Sampaolesi M et al. Human postnatal dental pulp cells codifferentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal sinergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death and Differentiation* 2007; 14: 1162-1171).

Carmen Zamfir

RELATIONSHIP BETWEEN OSTEOPONTIN AND VASCULAR CALCIFICATIONS IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS

Maria Belovici[1], J. Ketelslegers[2], M. Buysschaert[3], G.I. Pandele[1], Valerie Coninck[2], A. Leblanc[2]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1 V[th] Medical Clinic
Cliniques Universitaires St Luc
2 Service d'Endocrinologie et Nutrition
Université Catholique de Louvain Brussels
Faculté de Médecine
3 Unité de Diabétologie et Nutrition

RELATIONSHIP BETWEEN OSTEOPONTIN AND VASCULAR CALCIFICATIONS IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS (Abstract): **Aim**: To measure circulating osteopontin levels in a cohort of type 2 diabetic patients and to determine whether osteopontin could be associated with lower limb arteries calcifications, either intimal (atherosclerotic) or medial (mediacalcinosis). **Methods**: Osteopontin was measured in 60 patients with type 2 diabetes who were subdivided in three groups: group 1 ($n=19$) was characterized by the absence of peripheral vascular calcifications on plain soft tissue radiograms; group 2 ($n=18$) presented intimal calcifications without mediacalcinosis; in group 3 ($n=23$), mediacalcinosis was the dominant pattern. **Results**: Osteopontin levels were significantly higher in patients with mediacalcinosis (558 ng/ml [140-2289], median [range]) than in subjects without vascular calcifications (337 [134-841], $P=0.024$) or in individuals with intimal lesions (340 [140-1154], $P=0.05$). No correlation was observed between osteopontin, glycaemic control or HOMA test results. Osteopontin was correlated with creatinine clearance (P=0.037). **Conclusion**: In type 2 diabetic patients, circulating levels of osteopontin were higher in the presence of medial calcifications than in subjects without vascular lesions or in individuals with calcifications limited to the intimal layer. **Key words**: TYPE 2 DIABETES, OSTEOPONTIN, ATHEROSCLEROSIS, MEDIACALCINOSIS

Vascular calcifications in the lower extremities are common in type 2 diabetic patients (1). Arterial intima calcification represent an advanced stage of atherosclerosis. Calcifications can also develop within the medial wall, a finding known as mediacalcinosis or Mönckeberg sclerosis. Both lesions in particular in type 2 diabetic patients are associated with an increased risk of cardiovascular complications (2). Osteopontin, a pro-inflammatory adhesive cytokin, secreted in atherosclerotic and calcified vessels by macrophages, vascular smooth muscle cells and endothelial cells, has been recently implicated in the development of atheromatosis, and is also considered as a modulator of the vascular calcification process (3,4,5). Clinical data concerning the relationship between circulating osteopontin and peripheral arterial calcifications in diabetes are not available. Therefore, we measured circulating osteopontin in a cohort of type 2 diabetic patients and assessed whether osteopontin could be associated with lower

limb arteries calcifications, either intimal (atherosclerotic) or medial (mediacalcinosis).

PATIENTS AND METHODS

Patients

A total of 60 consecutive patients (37 males) with type 2 diabetes were included in this prospective study. Patients were hospitalised in the Diabetes Unit of the St Luc University Hospital for poor metabolic control and/or treatment adjustment. Definition of diabetes was established on the basis of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus.

Soft-tissue conventional postero-anterior fine-detail native radiographs of pelvis, thigh, low limbs and foot arteries were taken. The presence of arterial calcifications was classified as intimal-like plaques with irregular and patchy distribution (atherosclerotic), or uniform linear railroad track-type in the media (angiogram-like; mediacalcinosis).

On the basis of the type of vascular calcifications, patients were subdivided in three groups: group 1 ($n=19$) was characterized by the absence of peripheral vascular calcifications; group 2 ($n=18$) presented atherosclerotic calcifications without mediacalcinosis; in group 3 ($n=23$), mediacalcinosis was the dominant pattern, atherosclerotic calcifications being not detectable in 9 patients and atherosclerotic calcifications being observed in 14 patients.

Hypertension was considered in all patients treated with antihypertensive drugs and/or in subjects with blood pressure values higher than those admitted by the JNC-7 (> 135/85 mmHg). Macrovascular disease was considered in individuals with a history of stroke or coronary disease, permanent ECG abnormalities at rest and/or ischaemic abnormalities in a stress test. Intermittent claudication was defined in accordance with the ADA criteria as pain or cramping in the calves, thighs or buttocks that appears reproducibly with walking exercise and is relieved by rest (1). Patients with a recent cardiovascular event, overt nephropathy (plasma creatinine = 2 mg/dl) or infection status were excluded for the study. They were also excluded if they had an history of current smoking habits, a possible confounding factor in osteopontin determination. Informed consent was obtained from all the subjects.

Methods

Renal function was evaluated by creatinine clearance calculated by the Cockcroft Gault formula. Insulin sensitivity and â-cell function were evaluated by Homeostasis Model Assessment (HOMA). Glycated haemoglobin (HbA_1c) was determined by an ion exchange high liquid pressure chromatography method (Tosoh, Bioscience, Japan). Serum lipid levels were determined by automated conventional methods (LX20 Instrument, Beckman Coulter, USA). Ultrasensitive C-reactive protein was measured by nephelometry (Behring BN II; DADE Behring, Deerfield-IL, USA). Plasma homocystein levels were determined on heparinized plasma using fluorescence polarisation immunoassay on an Imx Analyzer (Abbott Diagnostics).

Fasting plasma osteopontin was determined by a solid phase sandwich ELISA using two highly specific antibodies (Immunobiological Laboratories, Hamburg, Germany). The normal values ranged from 124 to 394 ng/ml in our laboratory.

Microalbuminuria, assessed by immunonephelometry, was defined as urinary albumin excretion between 30 and 300 mg/24 heures (Behring BN II; DADE Behring Deerfield-IL, USA).

Statistical methods

Results are expressed as median (range). Statistical analysis was performed after log transformation of variables. Comparison between groups was performed by ANOVA followed by posthoc analysis using Student

t test for unpaired variables. Pearson's test was used to find a correlation between variables. Between groups of differences of categorical variables were evaluated by chi-square tests. Results were considered significant for $P = 0.05$. All analyses were performed by JMP software package (SAS Institute Inc., USA).

RESULTS

The clinical characteristics of the patients are indicated in Table I. Subjects in group 2 and 3 were slightly older and had a longer duration of diabetes ($p=0.053$ and $p=0.02$ respectively) than individuals in group 1. Sex ratio, body mass index and abdominal perimeters were comparable in the three groups. Treatment of diabetes, as well as concomitant medications, in particular angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor antagonists and statins were comparable among groups (Table I). The prevalence of hypertension, stroke and coronary artery disease was comparable in the three groups. Intermittent claudication was comparable in individuals with intimal and medial calcifications. HOMA-B was higher in group 1 than in the two other groups ($P=0.03$) but HOMA-S values were comparable. HbA_1c levels were also higher in group 2 and 3 than in group 1 ($P=0.002$). Homocystein values as well as lipid profiles were comparable except for LDL-cholesterol which was lower in patients with mediacalcinosis. Osteopontin levels were significantly higher in patients with mediacalcinosis (558 ng/ml [median]) than in subjects without calcifications (337 ng/ml, $P=0.024$) or with atherosclerotic calcifications only (340 ng/ml; $P=0.05$). Osteopontin levels were comparable in group 1 and 2 ($P=0.76$). In group 3, osteopontin values were 607 ng/ml [140-2289] and 436 ng/ml [166-2114] in patients in whom only

TABLE I
Clinical characteristics of the patients

	Group 1 No vascular calcifications (n= 19)	Group 2 Intimal calcifications (n=18)	Group 3 Mediacalcinosis (n=23)
Age at inclusion (years)	56 (46-82)	64 (39-74)	67 (49-85)*
Sex ratio (female/male)	9/10	7/11	7/16
Duration of diabetes (years)	8 (1-47)	20 (1-33)	17 (1-32)**
Body mass index (kg/m²)	32 (24-55)	33 (21-48)	32 (23-42)
Abdominal perimeter (cm)	106 (85-153)	108 (90-139)	110 (90-150)
Hypertension (%)	85	88	86
Coronary heart disease (%)	21	40	39
Stroke (%)	5	0	13
Intermittent claudication (%)	0	50	48**
Medications (%)			
Oral antidiabetic drugs§	95	83	74
Insulin	32	67	61 (?)
ACE-inhibitors	68	56	52
AT-II receptor antagonists	16	28	17
β blockers	37	22	34
Statins	21	27	43

Values are median (range) unless otherwise specified
§ alone or combined with insulin
* group 3 vs. group 1: P=0.04; group 3 vs. group 2: P=0.05
** group 2 and 3 vs. group : P = 0.02

TABLE II
Biological characteristics of the patients

	Group 1	Group 2	Group 3
C-peptide (pmol/ml)	0.7 (0.4-1.6)	0.7 (0.2-1.8)	0.8 (0.1-2.0)
HOMA-B (%)	61 (18-169)	35 (9-98)	33 (10-137)*
HOMA-S (%)	47 (19-193)	44 (23-155)	44 (18-122)
HbA_1c (%)	7.5 (5.7-13.0)	9.3 (7.2-12.3)	8.9 (6.6-12.0)*
Cholesterol (mg/dl) Total	194 (111-294)	189 (142-243)	161 (110-236)
LDL	121 (59-212)	113 (71-160)	86 (39-152)**
HDL	41 (22-62)	41 (27-61)	40 (25-66)
Triglycerides (mg/dl)	136 (94-560)	123 (68-281)	152 (78-321)
Lipoprotein a (mg/dl)	12 (3-98)	25 (2-87)	12 (2-90)
Homocystein (µmol/L)	9 (4-15)	11 (5-18)	11 (7-18)
C Reactive Protein (mg/dl)	0.3 (0.1-1.4)	0.5 (0.1-2.1)	0.4 (0.5-1.9)
Creatinine Clearance (ml/min)	93 (52-150)	78 (53-156)	83 (45-124)
Microalbuminuria (mg/24 h)	21 (6-175)	28 (11-255)	22 (10-300)
Osteopontin (ng/ml)	337 (134-841)	340 (140-1154)	558 (140-2289)***

* group 2 and 3 vs. 1 : P = 0.02
** group 3 vs. 1 and 2 : P < 0.01
*** group 3 vs. 1 : P=0.024; group 3 vs. 2 : P=0.05

mediacalcinosis was detectable or those in whom mediacalcinosis was associated with intimal lesions. Considering all patients together, no correlation was observed between osteopontin and age ($P=0.92$), sex ratio ($P=0.49$), duration of diabetes ($P=0.53$), BMI ($P=0.51$), hypertension ($P=0.63$), coronary artery disease ($P=0.50$), stroke ($P=0.42$) or intermittent claudication ($P=0.12$). Similarly, there was no correlation between osteopontin and HbA_1c ($P=0.19$), LDL-cholesterol ($P=0.25$) or insulin resistance ($P=0.98$) and B-cell function ($P=0.50$), as determined by HOMA tests. A significant correlation was observed between osteopontin and homocysteine ($P=0.04$) as well as with creatinine clearance ($P=0.037$).

DISCUSSION

Our results in type 2 diabetic patients show a significant increase in circulating osteopontin levels in patients with mediacalcinosis than in diabetic subjects with intimal atherosclerotic lesions exclusively or no detectable arterial lesions of the lower extremities. The difference in osteopontin levels in group 3 could not be ascribed to age and/or duration of diabetes, since no correlation was observed for all the patients between osteopontin and the latter parameters. Similarly, osteopontin was not increased in group 3 due to higher glucose levels as suggested by Kawamura et al. (6). In our cohort, indeed, no correlation could be evidenced between osteopontin and glycaemic control. Osteopontin could be affected by several medications including ACE-inhibitors and statins (5,7), but this is not the case in our study since current treatments were comparable between different groups. Our observation of high osteopontin levels in the presence of medial lesions are in agreement with the data of Takemoto et al., who showed that osteopontin was highly expressed in the medial layers of the carotid arteries of streptozotocin-induced diabetic rats as well as in pieces of the forearm arteries in three diabetic patients with end-stage renal disease. In non diabetic individuals with clinical nephropathy, there was also a strong correlation between osteopontin and medial lesions. On the other hand, bone matrix

proteins including osteopontin were reported to be proportional to the degree of vascular calcifications (8). This is in agreement with and could also account for the higher levels of osteopontin in patients exhibiting both medial and intimal lesions. High osteopontin levels in the media are to be interpreted at the light of the observation of Speer et al. and others suggesting that osteopontin prevents crystal formation and growth and therefore might be an adaptive mechanism for limiting the active vascular calcification process (9,10,11). It is not confirmed whether this change might indirectly favour plaque rupture, as indirectly suggested by Golledge et al. (12). On the other hand, focal expression of osteopontin mRNA and protein in atherosclerotic plaques (but not in normal arteries) has been reported (12). We did not observe increased osteopontin levels in patients with calcifications limited to the intima probably because the local activation of osteopontin was insufficient to induce significant change in the systemic circulation. High levels of osteopontin have been considered as an independent predictor of future cardiac events in non diabetic subjects. Our data showing that the highest levels of osteopontin are observed in the patients with mediacalcinosis are in line with previous observations showing that medial artery calcification are a strong independent predictive factor of cardiovascular mortality in non diabetic and type 2 diabetic patients (2,3,4).

CONCLUSION

In type 2 diabetic patients, circulating levels of osteopontin are higher in the presence of medial calcifications as visualized by plain soft-tissue radiograms than in subjects without vascular calcifications or in individuals with lesions exclusively limited to the intimal layer. The exact cause and role of such high levels of osteopontin in the presence of mediacalcinosis as well as the pathophysiological consequences remained to be determined in further studies.

REFERENCES

1. American Diabetes Association. Peripheral arterial disease in people with diabetes. *Diab Care* 2003 ; 23 : 3333-3341
2. Doherty T, Fitzpatrick L, Inoue D et al. Molecular, endocrine and genetic mechanisms of arterial calcification. *Endocrine Rev* 2004 ; 25 : 629-672.
3. Takemoto M, Yokote K, Nishimura M et al. Enhanced expression of osteopontin in human diabetic artery and analysis of its functional role in accelerated atherogenesis. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2000 ; 20 : 624-626.
4. Matsui Y, Rittling S, Okamoto H et al. Osteopontin deficiency attenuates atherosclerosis in female apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2003 ; 23 : 1029-1044.
5. Minoretti P, Falcone C, Calcagnino M et al. Prognostic significance of plasma osteopontin levels in patients with chronic stable angina. *Eur Heart J* in press.
6. Kawamura H, Yukute K, Asaumi S et al. High glucose-induced upregulation of osteopontin is mediated via Rho/Rho kinase pathway in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2004 ; 24 : 276-281.
7. Kusuyama T, Yoshiyama M, Omura T et al. Angiotensin blockade inhibits osteopontin expression in non-infarcted myocardium after myocardial infarction. *J Pharmacol Sci* 2005 ; 98 : 283-289.
8. Speer MY, McKee MD, Guldberg RE et al. Inactivation of osteopontin gene enhances vascular calcification of matrix Gla protein-deficient mice : evidence for osteopontin as an inducible inhibitor of vascular calcification *in vivo*. *J Exp Med* 2002 ; 196 : 1047-1055.

9. Speer MY, Chien Y, Quan M et al. Smooth muscle cells deficient in osteopontin have enhanced susceptibility to calcification *in vitro*. *Cardiovasc Res* 2005 ; 66 : 324-333
10. Giachelli CM, Speer MY, Li X, Rajachar R, Yang H. Regulation of cardiovascular calcification : roles of phosphate and osteopontin. *Circ Res* 2005 ; 96 : 717-722.
11. Pampena D, Robertson K, Litvinova O, Lajoie G, Golberg H, Hunter G. Inhibition of hydroxyapatite formation by osteopontin phoshopeptides. *Bioch J* 2004 ; 378 : 1083-1087.
12. Golledge J, McCann M, Mangan S, Lam A, Karan M. Osteoprotegerin and osteopontin are expressed at high concentrations within symptomatic carotid atherosclerosis. *Stroke* 2004 ; 35 : 1636-1641.

NOUTĂŢI

CONCEPTUL STRUCTURAL ÎN EVALUAREA RISCULUI DE FRACTURI LA COPIII ŞI ADOLESCENŢII CU BOALĂ CRONICĂ RENALĂ

Copiii cu boală renală cronică (CKD) au multipli factori de risc pentru fracture datorită afectării dezvoltării zonei trabeculare şi corticale a osului. CKD în perioada copilăriei presupune un risc imediat de fractură şi compromite masa osoasă la vârsta adultă, ceea ce are drept rezultat fragilitate scheletală foarte mare pe întreaga viaţă. Boala cu turnover crescut are ca rezultat iniţial o îngroşare a trabeculilor cu un volum osos crescut. Pe măsură ce boala progresează, rezorbţia cavităţilor disecă trabeculii, deteriorează adeziunea şi scade volumul osos. Creşterea turnoverului are şi efect pe creşterea porozităţii corticale şi scăderea grosimii acesteia. Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), bazată pe măsurarea densităţii minerale a osului (BMD) este derivată din masa osoasă totală prin proiectare la suprafaţa osoasă (g/cm^2), corespunzând diferitelor efecte ale bolii asupra trabeculilor şi corticalei osoase. În contrast,tomografia osoasă computerizată periferică (peripheral quantitative computed tomography - pQCT) estimează volumetric BMD (vBMD, g/cm^3), face distincţia între osul cortical şi trabecular şi furnizează o estimare de acurateţe a dimensiunilor corticalei. Date recente au confirmat că pQCT măsoară vBMD a corticalei iar grosimea probează cu o mult mai mare acurateţe riscul de fracturi al pacientul adult dializat, comparativ cu estimarea prin DXA de şold sau vertebre. Cercetările actuale în această problemă sunt centrate pe compararea diferitelor metode de estimare a efectelor osteoditrofiei asupra modificărilor structurale în relaţie cu riscul de fractură. Astfel, sunt luate în discuţie potenţialele avantaje şi dezavantaje ale DXA şi alternativele de măsurare a densităţii osoase, geometriei şi microarhitecturii cum sunt pQCT, micro-CT (ĕCT) şi *micro magnetic resonance imaging* (ĕMRI) pentru evaluarea riscului de fractură (Leonard MB. A structural approach to the assessment of fracture risk in children and adolescents with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007 ; 22 : 1815-1824).

Mihaela Munteanu

STUDIUL FACTORILOR DE RISC ASOCIAŢI CU OSTEOPOROZA, PE DOUĂ EŞANTIOANE DE PACIENŢI INVESTIGAŢI PRIN METODA OSTEODENSITOMETRIEI ULTRASONICE

V. Bejan[1], Doina Azoicăi[3], Elena Saviuc[2], Şt. Olteanu[4], Smaranda Miu[3], A. Ivan[3]
Spitalul Clinic de Pneumoftiziologie Iaşi
1 Serviciul de Radiologie şi Imagistică
Universitatea de Medicină şi Farmacie ''Gr.T. Popa'' Iaşi
Facultatea de Medicină
2 Clinica de Endocrinologie
3 Disciplina de Asistenţa Primară a Stării de Sănătate şi Epidemiologie
4 Disciplina de Sănătate Publică şi Management

RESEARCH ON RISK FACTORS ASSOCIATED WITH OSTEOPOROSIS, ON TWO SAMPLES OF PATIENTS INVESTIGATED USING ULTRASONIC OSTEODENSITOMETRY (Abstract). **Aim**: To detect risk factors associated with osteoporosis, on two samples of patients investigated using ultrasonic osteodensitometry method (UOD). **Objectives**: To found out the relation between anthropometrical data, factors which describe lifestyle of personal pathologic antecedents and T score obtained after UOD, as well as their classification. **Material and methods**: The epidemiological and imagistic assessments were carried out on two samples of 364 persons from general population (the A sample), and 144 (the B sample), respectively. The registered variables were processed using adequate statistical testes. **Results**: In the A sample, over 50% of patients had, after the T score, osteopenia, and 10% suffered from osteoporosis. Concerning the lifestyle, we highlighted: a low lactates consumption (69.7%), coffee (14.3%) and alcohol (0.8%) consumption; sedentary life (48.9%), tobacco smoking (2.2%). The risk quantification by score calculation put in evidence an average of 9.9 ± 3.3 (for a minimum of 4 and a maximum of 20). In the B sample, the T score varied between 4.77 and 1.67. The assessment of relation between the T score and lifestyle permitted the classification in risk, protection and indifferent factors. Coffee consumption is a weak protection factor (OR=0.84), and tobacco smoking increases osteoporosis risk 4.13 times. The risk is 3.7 for alcohol consumers, as well as for low lactate consumption (OR=2.87). Sedentary life cannot consider a risk factor, in our research. **Conclusion**: Calculation of a individual score that show the weight risk in persons with densitometric alterations represents a practical method in monitoring persons who can be exposed of some invalidities after alterations of bone structures. **Key words**: OSTEOPOROSIS, ULTRASONIC OSTEODENSITOMETRY, RISK SCORE

În ultimele două decenii osteoporoza a fost recunoscută ca fiind o importantă problemă de sănătate atât de către comunitatea medicală cât şi de populaţia generală (1,2, 3,4,5). În prezent evaluarea osteoporozei şi implicit a riscului de fractură, se realizează prin măsurarea masei şi a conţinutului mineral al scheletului (6,7,8). Metoda radiografiei clasice a scheletului a fost, progresiv, înlocuită cu tehnici de fotodensitometrie radiografică, absorbţiometrie monofotonică sau monoenergetică (AMP), absorbţie bifotonică (ABP), absorbţiometria la razele X bienergetice (AXB), tomodensitometria cantitativă (TDQ), activarea neutronică, evaluarea osului prin ultrasunete (9, 10,11).

Obiectivele cercetării au constat în: determinarea relaţiei dintre datele antropometrice (vârstă, greutate, înălţime, IMC) şi scorul T obţinut în urma ODU; determinarea relaţiilor dintre factorii care descriu stilul de viaţă (fumat, cafea, alcool, carenţă lactate, sedentarism) şi scorul T; investigarea asociaţiilor epidemiologice dintre antecedentele personale patologice şi valorile scorului T; clasificarea factorilor investigaţi în factori de risc, de protecţie sau factori indiferenţi.

MATERIAL ŞI METODE

Au fost investigaţi pacienţi din două eşantioane cuprinzând 364 (Lotul A), respectiv 144 de persoane (Lotul B), în perioada 2002-2006. Pacienţii au fost investigaţi prin osteodensitometrie ultrasonică şi intervievaţi conform chestionarului „TEST OSTEOPOROZĂ" privind datele de: identificare, antropometrice, ale testului de densitometrie osoasă ultrasonică, stil de viaţă, antecedente eredocolaterale şi personale patologice. Informaţiile culese în aceste formulare au fost introduse într-o bază de date fiind prelucrate prin programul SPSS.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

În lotul A rezultatele osteodensitometriei ultrasonice au relevat:

a) scorul T are o distribuţie normală, gaussiană, semnificaţia testului Kolmogorov-Smirnov fiind p=0,452. Media seriei a fost de -1,2 ± 1,0, iar mediana şi la valoarea de -1,2, cu o distribuţie uşor asimetrică spre dreapta şi moderat aplatizată. Minimul seriei a fost -3,5 iar maximul de +2,0. Cei mai mulţi pacienţi au avut un scor T cuprins între -2,5 şi -1 (182 pacienţi, 50,8%), astfel încât peste 50% dintre pacienţii studiaţi aveau, conform scorului T, osteopenie. Aproximativ 10% dintre pacienţi au avut valori ale scorului T mai mici de -2,5, sugerând osteoporoză manifestă. Un procent de 39,9% dintre pacienţi au avut valori ale scorului T mai ridicate decât -1, excluzând patologia osoasă cu deficit de mineralizare

b) indicele BMD (Bone Mineral Density) a fost înregistrat pentru 281 de pacienţi (77,2%), la care nu au fost înregistrate erori de culegere a datelor.

Densitatea minerală osoasă medie a fost de 0,456 ± 0,112, cu o mediană situată la valoarea de 0,452, având două module, la 0,339 şi la 0,5, fiecare având frecvenţa de 5. Distribuţia moderat asimetrică spre dreapta şi cu tendinţa de aplatizare (fig.1).

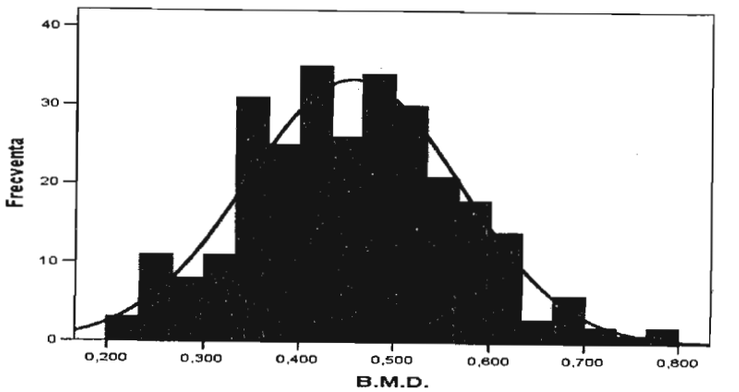


Fig. 1. Histograma BMD

c) indicele de rigiditate Stiffness Index (STI) a înregistrat 278 date valide (76,4%), având o distribuţie normală, gaussiană, cu o semnificaţie a testului Kolmogorov-Smirnov Z p=0,949. Media seriei a fost de 84,2 ± 17,7, cu mediana la valoare de 83,45 şi două module, la 64,9 şi la 65,7, ambele cu frecvenţa de 4. Ca şi în cazul BMD, curba de distribuţie a deviat moderat spre dreapta şi o uşoară aplatizare, datorată şi bimodalităţii.

În ceea ce priveşte stilul de viaţă, s-a remarcat faptul că cei mai frecvenţi factori de risc sunt: consumul redus de produse lactate (69,7%), sedentarismul (48,9%) şi, într-o proporţie mai redusă: consumul de cafea (14,3%), tabagismul (2,2%), consumul de alcool (0,8%).

Din datele centralizate s-a calculat un punctaj de risc pentru 342 (94,0%) subiecţi, la care înregistrările au fost complete. Punctajul cel mai mare reprezintă şi cel mai crescut risc pentru fracturi concecutiv fenomenelor corelate cu ostoporoza. Media punctajelor de risc a fost de 9,9 ± 3,3. Mediana s-a situat la valoarea 10, iar modulul a fost 7. Curba a fost deviată la dreapta şi aplatizată.

Lotul B a fost format din 144 de persoane cărora li s-a efectuat osteodensitometrie ultrasonică şi s-a completat o fişă de evaluare care a cuprins următoarele informaţii: sex, data naşterii, înălţime, greutate, mărimea piciorului, vârsta, grosimea piciorului. Ca rezultate s-au înregistrat scorul Z, scorul T, viteza sunetului la trecerea prin os, indicele de rigiditate (stiffness).

a) indicele de rigiditate a fost determinat la 141 persoane care au avut înregistrări valide ale indicelui. Acesta a variat între 3,3 şi 145,5, cu o medie de 100,6 ± 21,9. Mediana a fost la 99,6. Seria este trimodală, cu primul modul la 94,1, al doilea la 98,7 iar ultimul la 105,1, fiecare cu o frecvenţă de 3 (2,1%). Distribuţia nu poate fi considerată normală (Kolmogorov-Smirnov Z de 1,355, p=0,051).

b) mărimea piciorului a variat în lotul studiat între 34 şi 44, cu o medie de 37,98 ± 1,58, mediana situându-se la 38 iar modulul la 39. Nu este o distribuţie normală, gaussiană. Percentilul 25 a fost situat la 37, 50 la 38, iar 75 la 39.

c) scorul T a variat în lotul de studiu între -4,77 şi 1,67. Media scorului T a fost de -1,65 ± 1,21. Mediana s-a situat la -1,615. Seria este cvadrimodală, cu primul modul la -2,40, altul la -2,20, al treilea la -1,40 iar ultimul la -1,04. Fiecare a avut frecvenţa 3. Distribuţia este normală, cu indice Z de 0,713, p=0,690.

d) scorul Z a avut o medie de -0,789 ± 1,121, cu mediana situată la 0,8 şi primul modul (serie bimodală) situat la -1,20 iar ultimul la -0,54. Valorile au variat între un minim de -4,08 şi un maxim de 3,36. Din punctul de vedere al geometriei distribuţiei, aceasta este cvasinormală, foarte uşor deviată la dreapta şi puţin ascuţită.

În ceea ce priveşte punctajul pentru aprecierea riscului şi valorile scorului T s-a remarcat faptul că asocierea este inversă şi slabă, creşterea punctajului fiind proporţională cu scăderea scorului T. Coeficientul de corelaţie Pearson este r = -0,197, iar testul de liniaritate având o semnificaţie p<0,01. Semnificaţia testului ANOVA a fost mai mică de 0,001, demonstrând statistic faptul că modelul regresional ales prin explicarea variabilităţii scorului T prin punctaj, este unul potrivit. Consumul de cafea, în studiul nostru, s-a dovedit a fi factor de protecţie slab, raportul cotelor (OR) fiind de 0,84 ($CI_{95\%}$ 0,24-2,66, p=0,748), iar riscul relativ estimat pentru băutorii de cafea de a face osteoporoza a fost de 0,86 ($CI_{95\%}$ 0,33-2,23). Fumatul a peste 1 pachet de ţigarete pe zi a indicat un risc relativ estimat de 3,24 ($CI_{95\%}$ 0,96-10,94) în producerea osteoporozei, fiind de 4,13 ori mai mare decât la nefumători (OR 4,13; $CI_{95\%}$ 0,53-25,53; p=0,073). Riscul relativ estimat de a face osteoporoză la consumatorii de mai mult de 2 pahare alcool/zi este de 3,70 ($CI_{95\%}$ 0,72-18,95), fiind de 5,05 ori mai ridicat decât la cei care nu consumă ($CI_{95\%}$ 0,0-73,89; p=0,147). Consumul redus de produse lactate s-a dovedit a fi cu certitudine un factor de risc pentru apariţia osteoporozei, deoarece riscul relativ estimat este de 2,65 ($CI_{95\%}$ 1,05-6,69) fiind de 2,87 ori mai mare decât riscul la cei care consumă suficiente lactate (OR 2,87; $CI_{95\%}$ 1,02-8,71; p=0,028). Riscul relativ estimat pentru osteoporoză la cei care au afirmat că duc o viaţă sedentară a fost de 0,87 ($CI_{95\%}$ 0,40-1,86), însă intervalul de încredere şi semnificaţia mică a testului chi pătrat (p=0,679) ne fac să apreciem că acurateţea rezultatelor a fost redusă. Antecedentele eredocolaterale, reprezentate de fracturile la părinţi după vârsta de 45 ani sunt un factor slab de risc, OR fiind de 1,74 ($CI_{95\%}$ 0,73-4,07) iar RR estimat de 1,64 ($CI_{95\%}$ 0,82-3,30); p=0,165; apariţia menopauzei înainte de 45 de ani creşte riscul de a face osteoporoză de 1,79 ori ($CI_{95\%}$ 0,79-3,99; p=0,125); fracturile în antecedente după vârsta de 50 ani nu influenţează riscul de apariţie a osteoporozei, OR fiind de 1,078, ($CI_{95\%}$ 0,42-2,79); p=0,877. Prezenţa afecţiunilor metabolice par să nu influenţeze cu nimic riscul de osteoporoză, dintre cei 33 de pacienţi cu osteoporoză, 30,3% fiind expuşi riscului, proporţie comparabilă cu 28,1% dintre cei 324 de pacienţi fără osteoporoză care au fost expuşi la risc. (OR = 1,113, $CI_{95\%}$ 0,51-2,43) (tab. I, fig. 2)

Reprezentarea valorile OR pentru apariţia osteoporozei (cuantificată prin scorul T < -2,5) la subgrupurile formate prin acţiunea sau prezenţa factorilor cercetaţi sunt redate în figura 2. Cele mai ridicate valori ale riscului (OR) sunt pentru consumul de alcool, fumat, consumul redus de lactate, menopauza înainte de 45 de ani, fracturi la părinţi după 45 de ani, bolnavii cu osteoporoză având o probabilitate mai ridicată de a fi fost expuşi la aceşti factori.

Comparând media punctajului la cei care au avut scorul T mai mic de -2,5 faţă de cei cu scorul T mai mare de -2,5 s-a observat că media pentru cei din primul grup este semnificativ mai mare decât la cei din al doilea grup (13,24±3,85 vs. 11,58±4,65, p = 0,039, Mann-Whitney U pentru 2 eşantioane independente). Aşadar,

TABELUL I

Riscul pentru apariţia osteoporozei în raport cu factorii de risc investigaţi

Factorul investigat	Raportul cotelor (OR)	95% CI	p
Consum de cafea	0,84	0,24-2,66	0,748
Fumat	4,13	0,53-25,53	0,073
Consum de alcool	5,05	0,0-73,89	0,147
Consum redus lactate	*2,87*	*1,02-8,71*	*0,028*
Sedentarism	0,86	0,42-1,76	0,679
Fracturi la părinţi după 45 ani	1,74	0,73-4,07	0,165
Cicluri neregulate[1]	0,84	0,37-1,93	0,684
Menopauza înainte de 45 ani[1]	1,79	0,79-3,99	0,125
Fracturi după 50 ani[2]	1,08	0,42-2,79	0,877
Afecţiuni metabolice (diabet, hipertiroidie, hepatopatii)	1,11	0,51-2,43	0,788
Poliartrita reumatoidă	1,06	0,39-2,87	0,915
Tratament cu heparină, corticosteroizi, methotrexat	0,41	0,05-3,14	0,376
Intervenţii chirurgicale (histerectomie)[1]	1,21	0,52-2,82	0,657

1 doar pacienţii de sex feminin; 2 doar pacienţii cu vârsta peste 50 ani

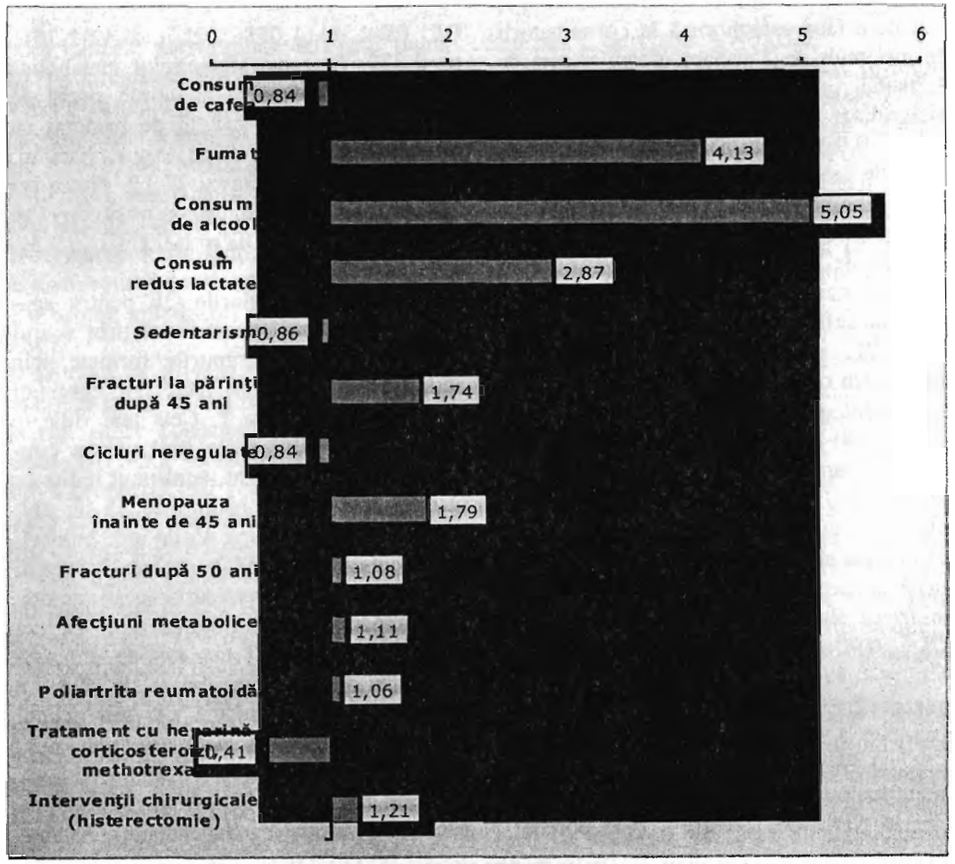


Fig. 2. Reprezentarea valorilor riscurilor pentru factorii investigaţi

punctajul la cei care au osteoporoză (conform valorilor scorului T) este, în medie, cu aproximativ 2 puncte mai mare decât al celorlalţi. Între punctajul final obţinut de pacienţi şi scorul T există o corelaţie inversă liniară ($p<0,001$), moderat-slabă ($r = -0,241$).

CONCLUZII

Studiile efectuate pe loturi diferite de persoane din populaţia generală a relevat o prevalenţă crescută a osteoporozei la persoanele de sex feminin aflate în perioada menopauzei.

Evaluarea osteodensitometrică s-a dovedit a fi o metodă utilă pentru aprecierea gradului de modificare osoasă care, în corelare cu factorii individuali, pot să atragă atenţia asupra unor consecinţe apropiate prin producerea de fracturi.

Calcularea unui punctaj individual care să releve riscurile la personale cu modificări ale indicatorilor densitometrici constituie o metodă practică de monitorizare a stării de sănătate a persoanelor care pot fi expuse unor invalidităţi consecutive fenomenelor patologice instalate, în timp, la nivelul structurii osului.

BIBLIOGRAFIE

1. Blanchard F, Novella JL. Osteoporosis, a real public health problem. *Soins Gerontol* 2001 ; 31 : 12-15.
2. Găleşanu G. Osteoporoza. În : *Endocrinologie, ghid de diagnostic şi tratament în bolile endocrine*. Zbranca E editor. Iaşi : Polirom, 1994, 150-154.
3. Dargent-Molina P. Epidemiology and risk factors for osteoporosis. *Rev Med Interne* 2004 ; 25 (Suppl 5) : S517-S525.
4. Swaminathan R. Nutritional factors in osteoporosis. *Int J Clin Pract* 1999 ; 53 (7) : 540-548.
5. Yoshimura N. Intervention in lifestyle factors for the prevention of osteoporosis and osteoporotic fractures. *Clin Calcium* 2005 ; 15 (8) : 1399-1408.
6. Vulpoi C, Mogoş V, Găleşanu C et al. The predictive role of total body mass and of adipal tissue upon bone mineral density at premenopausal women. *Rev Rom Endocr Metab* 2002 ; 1 (2) : 69-75.
7. Wasnich RD. Bone mass measurement : prediction of risk. *Am J Med* 1993 ; 95 : 65-105.
8. Zbranca E, Găluşcă B, Mogoş V. Bone mineral densiometry. The importance of BMD in endocrinologist practice. *Timişoara Med J* 2004 ; 3 : 260-267.
9. Cosman F, Herrington B, Himmelstein S, Lindsay R. Radiographic absorptiometry : A simple method for determination of bone mass. *Osteoporosis Int* 1991 ; 2 : 35-38.
10. Găleşanu C, Găleşanu MR, Moisii L. Normal bone mineral content levels determined by quantitative computer tomography (QCT) in the population of Moldavia. *Rev Med Chir* 2004 ; 108 (2) : 314-318.
11. Wahner HW, Fogelman I. *The Evaluation of Osteoporosis : Dual Energy X-Ray Absorptiometry in Clinical Practice*. London : Martin Dunitz Ltd., 1994.

NOUTĂŢI

SCINTIGRAFIA MIOCARDICĂ DE STRES LA PACIENŢII CU INSUFICIENŢĂ RENALĂ CRONICĂ DIALIZAŢI : COMPARAŢIA ÎNTRE DOBUTAMINĂ ŞI DIPIRIDAMOL

Patologia coronariană reprezintă aproximativ 20% din cauza deceselor la pacienţii cu insuficienţă renală cronică dializaţi (IRCD). Scintigrafia miocardică reprezintă o metodă deosebit de eficientă în diagnosticul patologiei coronariene. Un studiu prospectiv efectuat pe un lot de 68 de pacienţi cu IRCD în vederea alegerii metodei optime de stres farmacologic a folosit tomoscintigrafia sincronă cu ECG în repaus, după stres farmacologic cu dipiridamol (DYP) şi cu dobutamina (DOBU), realizate la un interval de o săptămână. Modificările scintigrafice ale perfuziei miocardice au fost observate la 29 de pacienţi după DYP şi la 30 de pacienţi după DOBU ($p=NS$) şi au fost reversibile într-un număr egal de cazuri la cele doua vasodilatatoare (17 cazuri). În total anomaliile perfuziei şi/sau funcţiei cardiace au fost observate la 37 pacienţi după DYP şi la 42 după DOBU. Studiul a demonstrat că modificările perfuziei şi/sau funcţiei ventriculului stâng sunt observate la aproximativ 2/3 dintre pacienţii cu IRCD, fără a exista nici o diferenţă semnificativă între stresul la dipiridamol şi la dobutamina (Bondouy M, Walgraeve N, Devriese A, De Geeter F, Darcourt J, Franken PR. Scintigraphie myocardique de stress chez l'insuffisant renal chronique dialyse : comparaison entre dobutamine et dipyridamole. *Med Nucl* 2007 ; 31 : 406-408).

Ana-Maria Stătescu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

METODE NEINVAZIVE DE EVALUARE A INFLAMAŢIEI ÎN ASTMUL BRONŞIC

C. Grigoraş[1], T. Mihăescu[2]
1 Ambulatoriul Spitalului Clinic de Pneumologie Iaşi
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa'' Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Disciplina de Pneumoftiziologie

NONINVASIVE METHODS OF THE INFLAMMATION ASSESSMENT IN BRONCHIAL ASTHMA (Abstract): Airway inflammation plays a key role in asthma. Among noninvasive methods as tools to study these inflammatory processes and to monitor airways diseases, the sputum analysis is widely used. As well, the analysis of concentrations of nitric oxide (NO) and the analysis of exhaled breath condensate are alternative methods for assess the airway inflammation. In addition a treatment strategy directed at normalisation of these noninvasive parameters could led to a better control of the disease. **Key words**: BRONCHIAL ASTHMA, INDUCED SPUTUM, EXHALED NITRIC OXIDE

În mod uzual, diagnosticul astmului bronşic se bazează pe anamneză şi pe confirmarea existenţei unui sindrom obstructiv funcţional variabil, evidenţiat prin explorarea funcţională respiratorie. În ultima perioadă tot mai multe studii s-au adresat în mod direct diagnosticului şi monitorizării inflamaţiei bronşice prin metode biologice atât invazive cât şi mai puţin invazive. Articolul de faţă îşi propune o trecere în revistă a principalelor metode neinvazive de evaluare a inflamaţiei în astmul bronşic, cât şi contribuţia acestor metode în strategiile terapeutice de obţinere a controlului bolii.

SPUTA INDUSĂ

Sputa indusă este cea mai utilă metodă neinvazivă de evaluare a inflamaţiei căilor aeriene. Poate fi folosită atât în scop diagnostic cât şi pentru îmbunătăţirea managementului bolii, fiind şi un predictor al răspunsului la tratament. Se bazează pe principiul conform căruia, inhalarea de soluţie salină izotonă sau hipertonă prin nebulizare facilitează obţinerea unei probe de spută care poate fi apoi analizată. Este binecunoscut faptul că aerosolii soluţiilor hipertone induc bronhoconstricţie la pacienţii cu astm bronşic, probabil prin creşterea concentraţiei de mediatori (histamină, PGD_2, $PGF_{2\alpha}$), ca şi prin exacerbarea reflexelor neurogene.

De aceea, obţinerea unei probe adecvate de spută se face după un protocol riguros standardizat, pentru a împiedica bronhoconstricţia excesivă. Se poate folosi atât soluţia salină izotonă (0,9%), de preferat la pacienţii cu risc crescut de bronhospasm, cât şi soluţia hipertonă (3-5%), care este mai eficientă. Durata totală a procedurii a fost optim stabilită la 15-20 minute, necesită cabinet bine utilat şi medic cu experienţă, iar administrarea prealabilă de β_2 agonişti cu durată scurtă de acţiune (200 μg Salbutamol iniţial, se poate repeta apoi până la 400 μg) este obligatorie (1). Procesarea sputei presupune omogenizarea, apoi filtrarea, măsurarea numărului total de celule şi

a viabilităţii acestora, obţinerea şi prelucrarea supernatantului şi a sedimentului pentru citologia diferenţială. Sputa obţinută poate fi analizată prin citologie diferenţială, imunocitochimie, hibridizare *in situ* şi pentru determinările markerilor solubili.

Eozinofilia în sputa indusă împreună cu hiperreactivitatea bronşică reprezintă metodele cu cea mai mare specificitate (91% respectiv 72%) şi cea mai mare sensibilitate (90% respectiv 80%) pentru diagnosticul astmului bronşic.

La subiecţii normali, nonatopici, nefumători, fără hiperreactivitatea căilor aeriene, sputa este bogată în macrofage (69,2 +/- 13%) şi neutrofile (27,3 +/- 13%) şi săracă în eozinofile (0,6 +/- 0,8%), limfocite (1 +/- 1,2%) şi celule epiteliale (1,5 +/- 1,8%), cu un criteriu de calitate dat de procentul de celule scuamoase sub 30% (2). Conţinutul în eozinofile, neutrofile şi macrofage este reproductibil, în timp ce numărul total al celulelor, conţinutul în limfocite şi celule epiteliale au o slabă reproductibilitate. *O creştere a eozinofiliei peste 3% este caracteristică astmului bronşic.* La pacienţii astmatici prezenţa eozinofiliei în spută poate fi un predictor pozitiv pentru răspunsul la corticosteroizi. Atât pacienţii care nu au luat tratament corticosteroid inhalator cât şi o mare parte din cei sub tratament, dar încă simptomatici, prezintă eozinofilie în spută. Persistenţa eozinofiliei la pacienţii cu ,,astm dificil'' poate ridica suspiciunea de tratament suboptim sau noncompliantă la tratament. Neutrofilia în spută la astmatici, în general, reprezintă un indicator al unui răspuns slab la corticosteroizi (3).

Corticosteroizii sistemici sau inhalatori determină scăderea importantă a eozinofilelor în spută, deşi eozinofilia crescută poate persista în astmul sever în ciuda unui tratament maximal (4). $Beta_2$ agoniştii cu durată lungă de acţiune nu au efect pe eozinofilia din spută, în schimb Anti IL5 şi antileucotrienele determină scăderea importantă a eozinofilelor în sputa indusă. Numărul de eozinofile din sputa indusă se corelează bine cu treapta de severitate a astmului sau cu nivelul hiperreactivităţii bronşice (5). Studiile privind corelaţia dintre numărul de eozinofile din sputa indusă şi biopsiile bronşice sunt contradictorii. Cu toate acestea, datele existente au confirmat că numărul eozinofilelor din spută se corelează mai bine cu eozinofilia din lavaj sau din aspiratul bronşic decât cu numărul eozinofilelor din piesele de biopsie bronşică, aceasta datorându-se faptului că biopsia bronşică oferă informaţii la un moment dat, în timp ce probele de lavaj sau aspirat bronşic exprimă acumularea celulară în timp. Numărul de eozinofile din sputa indusă şi din piesele de biopsie bronşică se corelează bine cu nivelul NO din aerul expirat în formele de astm uşor, dar mai slab în formele moderat-severe (6).

MARKERI AI INFLAMAŢIEI ÎN AERUL EXPIRAT

1. Oxidul nitric expirat

Există dovezi că oxidul nitric (NO) joacă un rol cheie în fiziologia funcţională a căilor aeriene şi poate servi ca indicator al inflamaţiei căilor aeriene.

Măsurarea NO exhalat se bazează pe principiile metodei chemiluminescenţei: NO exhalat în aer în combinaţie cu ozonul formează bioxidul de azot care poate fi cuantificat. Pentru măsurarea NO expirat pacienţii trebuie să expire lent de la capacitatea pulmonară totală (CPT) o durată de 5 - 30 secunde cu un flux de 10-15 l/min (0,167 - 0,250 ml/s), împotriva unei rezistenţe scăzute (5-20 cm H_2O), conform recomandărilor ERS (Societatea Europeană de Boli Respiratorii). Rolul acestei rezistenţe scăzute este tocmai de a împiedica contaminarea NO expirat cu NO nazal. Curbele înregistrate cu aceste analizoare speciale permit aprecierea complianţei pacientului şi acurateţii manevrei. Unele aparate permit măsurarea simultană a CO_2 expirat. Valoa-

rea NO se exprimă în părţi per billion (pbm).

Deoarece NO expirat este dependent de fluxul respirator se constată o reducere importantă a NO expirat la o creştere a fluxului. La un flux mare, NO expirat reflectă mai mult valoarea NO alveolar datorită scurtării timpului necesar difuziunii bronşice. În schimb, la un flux mai scăzut există timp suficient difuziunii şi valoarea obţinută reprezintă NO de la nivel bronşic. Deşi valorile de referinţă la care se vor raporta valorile obţinute nu sunt definite, totuşi la un flux de 50 ml/sec valoarea normală a NO expirat este de 17,8 +/- 6,8 ppb NO, iar la un flux de 40 ml/sec se consideră valoare normală 24,9 +/- 4,2 ppb (7).

Studii recente au arătat o bună corelare între NO expirat şi nivelul hiperreactivităţii bronşice ca şi cu numărul de eozinofile din sputa astmaticilor (8). Astfel, NO expirat este o metodă la fel de bună pentru diagnosticul astmului bronşic asemeni metodelor de provocare bronşică. Piacentini et al. au găsit o bună concordanţă între NO expirat şi eozinofilia din spută în evaluarea gradului inflamaţiei căilor aeriene la pacienţii cu astm uşor-moderat (9). Această corelaţie este întâlnită atât la astmaticii aflaţi sub tratament corticosteroid cât şi la cei fără tratament. Astfel, NO expirat are o sensibilitate de 85% şi o specificitate de 90% la valori mai mari de 16 pbs pentru diagnosticul astmului bronşic cu o valoare predictivă pozitivă de peste 90% (10). O corelaţie pozitivă între NO expirat şi eozinofilele activate evaluate prin valoarea PBM în piesele de biopsie endobronşică, a fost găsită la pacienţii asimptomatici cu astm sau cu tratament doar cu beta 2 agonişti. La copii cu astm dificil aflaţi sub corticozi oral există o corelaţie bună între valoarea NO expirat şi valoarea eozinofilelor din piesele de biopsie endobronşică. Se poate concluziona că NO expirat este un marker a eozinofiliei căilor aeriene, dar numai valorile mari sunt utile pentru a identifica pacienţii astmatici, atât atopici, cât şi nonatopici (11).

NO expirat este un bun mijloc de diagnostic a astmului bronşic, dar este util şi în monitorizarea bolii la pacienţii asimptomatici. S-a demonstrat că tratamentul cu corticosteroizi inhalatori duce la scăderea valorilor NO expirat în primele 6 ore de tratament şi atinge un maximum în 3-4 săptămâni. Valoarea NO expirat este dependentă de doza de corticosteroizi până la valoarea de 400 mcg/zi budesonid, când se obţine un platou conform studiului efectuat de Jatakanon et al. (12). În schimb, eozinofilia din spută se caracterizează printr-o semnificativă relaţie doză-răspuns la diferite concentraţii de budesonid de până la 1600 mcg/zi. De aceea, eozinofilia din spută reprezintă un marker mai fidel în monitorizarea bolii. La pacienţii care au întrerupt corticosteroizii inhalatori se constată o creştere variabilă a NO expirat care se corelează cu creşterea eozinofilelor în spută sau cu hiperreactivitatea bronşică. NO expirat este un indicator al inflamaţiei chiar când se utilizează altă medicaţie controler. Ca urmare, adăugarea de antagonişti ai leucotrienelor duce la scăderea valorilor NO expirat.

O altă potenţială utilitate a NO expirat este predicţia astmului bronşic. O valoare crescută a NO expirat poate fi găsită la pacienţii cu forme ,,subclinice'' de astm (valori normale funcţionale, teste bronhodilatatoare negative, absenţa simptomelor tipice). Această situaţie, semnificând o inflamaţie bronşică subclinică întâlnită mai frecvent la adolescenţi şi asociată deseori cu o hipereactivitate bronşică semnificativă, impune folosirea corticoizilor inhalatori în scopul prevenirii devoltării unui astm manifest clinic.

2. Etanul şi pentanul

Etanul este un produs rezultat din peroxidarea lipidelor ca rezultat al stresului oxidativ şi poate fi măsurat în aerul expirat prin cromatografie gazoasă. S-a constatat că valorile etanului sunt mai mari la pacienţii astmatici faţă de subiecţi de control nefumători şi mai mari la astmaticii care nu au primit tratament faţă de cei sub tratament corticoid. S-a constatat o corelaţie pozitivă între etanul expirat şi valorile NO expirat la pacienţii astmatici fără tratament. Mai mult, pacienţii netrataţi, cu VEMS sub 60%, au valori mai mari ale etanului expirat faţă de pacienţii cu obstrucţie mai redusă (VEMS > 60%). Valori crescute au fost găsite şi la fumători.

3. Monoxidul de carbon

Stresul oxidativ şi inflamaţia induc expresia hem-oxigenazei1, care produce monoxid de carbon (CO). S-a constatat că valorile CO sunt crescute la astmatici şi scad după tratamentul corticosteroid. Spre deosebire de valorile NO expirat, CO este crescut numai la pacienţii cu astm persistent, având valori normale la pacienţii cu crize intermitente. Nu au fost găsite corelaţii între valorile CO expirat şi VEMS sau hiperreactivitatea bronşică, dar scăderea valorilor CO expirat se corelează cu reducerea eozinofilelor din căile respiratorii (13). Totuşi valorile crescute ale CO sunt nespecifice şi pot fi intâlnite şi într-o infecţie virală acută a căilor respiratorii superioare sau la fumători.

MARKERI AI INFLAMAŢIEI ÎN CONDENSATUL AERULUI EXPIRAT

Condensatul aerului expirat (EBC – exhaled breathe condensate) la astmatici, obţinut prin răcirea şi îngheţarea aerului la -20°C, conţine nivele crescute de leucotriene B4/C4/D4/E4 ca şi nivele crescute ale unor markeri ai stresului oxidativ incluzând peroxidul de hidrogen (H_2O_2), glutation, aldehide, nitrotirozina şi 8 isoprostan. 8 isoprostan a fost crescut în aerul condensat atât la pacienţii cu astm uşor cât şi la cei cu astm moderat şi sever. A fost găsită o corelaţie pozitivă cu NO expirat, dar nu cu CO la pacienţii cu astm uşor. Această corelaţie nu a fost observată în astmul moderat şi sever. Nu a fost găsită nici o corelaţie între valoarea 8 isoprostanului şi valorile explorărilor funcţionale pentru nici un grup de pacienţi. Adenozina din aerul condensat se corelează bine cu valorile NO expirat şi cu simptomatologia clinică, ceea ce sugerează că reprezintă un marker care reflectă inflamaţia căilor aeriene. Metoda are limitele ei în sensul că nu permite separarea cu precizie a mediatorilor produşi la nivelul căilor respiratorii superioare de cei produşi din căile inferioare, nu specifică care este dependenţa de fluxul expirator pentru obţinerea unei probe adecvate şi nu sunt cunoscute valorile de referinţă ale multor mediatori.

STRATEGII TERAPEUTICE DE CONTROL BAZATE PE EVALUAREA INFLAMAŢIEI

Controlul total în astmul bronşic reprezintă dezideratul major al tratamentului. Au fost propuse mai multe criterii de apreciere a controlului bolii şi mai multe studii au încercat să stabilească comparaţii între acestea.

Prima strategie de obţinere a controlului bolii s-a bazat pe criteriul clinico-funcţional. Această strategie a constat în completarea unui chestionar validat cu analizarea unor parametrii precum scorul simptomelor, consumul de beta2 agonişti ori alterarea funcţională măsurată prin PEF (14). S-a demonstrat că această strategie este adesea insuficientă iar obţinerea controlului s-a realizat cu preţul creşterii medicaţiei de fond.

O altă strategie s-a bazat pe reducerea hiperreactivităţii bronşice şi s-a studiat dacă acest criteriu conduce la un control mai eficient al astmului şi la o reducere mai importantă a inflamaţiei căilor aeriene. Un lot de pacienţi cu astm uşor-moderat a fost monitorizat trimestrial timp de 2 ani, la fiecare vizită pacienţii fiind evaluaţi clinic şi funcţional, inclusiv prin măsurarea hiperreactivităţii bronşice. Medicaţia corticosteroidă a fost ajustată în acord cu cele patru

trepte de severitate conform consensului GINA, la care s-au adăugat patru trepte de severitate ale hiperreactivităţii bronşice. Inflamaţia a fost evaluată prin biopsii bronşice prin intermediul fibrobronhoscopiei la finalul perioadei de urmărire. S-a constatat că pacienţii monitorizaţi prin măsurarea hiperreactivităţii bronşice au avut o rată a exacerbărilor de 1,8 ori mai mică faţă de cei controlaţi prin criteriul clinico-funcţional, au avut o creştere mai însemnată a VEMS, grosimea membranei bazale a fost mai redusă iar necesarul de corticosteroizi pentru obţinerea controlului a fost mai mic (15). Se poate concluziona că strategia bazată pe reducerea hiperreactivităţii bronşice conduce la un control mai eficient al astmului, evidenţiat prin reducerea inflamaţiei căilor aeriene.

Alte studii au încercat să monitorizeze evoluţia bolii prin criteriul inflamaţiei eozinofilice din căile aeriene măsurate prin sputa indusă. Astfel, un lot de pacienţi cu astm moderat – sever au fost urmăriţi timp de 12 luni, ţinta fiind reducerea eozinofiliei din căile aeriene. La acest lot s-a constatat o scădere de 3 ori a exacerbărilor faţă de strategia de referinţă (clinico-funcţională) şi o reducere a numărului de spitalizări în condiţiile folosirii dozelor similare de coticosteroizi inhalatori faţă de pacienţii urmăriţi prin strategia clinico-funcţională. Se poate concluziona că există un mai bun control al bolii dacă se urmăreşte o menţinere a eozinofiliei din sputa indusă sub 3% (16).

Un alt marker noninvaziv care poate fi folosit ca o alternativă pentru ajustarea tratamentului corticosteroid inhalator îl reprezintă NO expirat. Folosind ca ţintă a controlului inflamaţiei o valoare de 15 pbm a NO expirat la un flux de 250ml/sec, studiile efectuate pe un lot de pacienţi cu astm uşor-moderat au arătat că, deşi există un câştig mic pe reducerea exacerbărilor, doza de corticosteroizi inhalatori pentru obţinerea aceluiaşi control ca şi criteriul clinico-funcţional, a fost de două ori mai mică (17). Prin urmare, prin folosirea NO expirat ca şi criteriu de monitorizare, doza de coticosteroizi inhalatori poate fi semnificativ redusă fără pierderea controlului bolii.

O altă strategie de control s-a bazat pe evaluarea inflamaţiei distale şi pe remodelarea bronşică. Se ştie că inflamaţia distală este mecanismul patogenic principal implicat în astmul nocturn dar şi în formele refractare de astm bronşic. S-a propus NO expirat ca marker al inflamaţiei căilor aeriene distale, prin separarea NO din bronşii, obţinut la debite mai lente, de NO din alveole obţinut la fluxuri mai mari. S-a constatat că NO alveolar poate fi un indicator al inflamaţiei distale, concentraţia sa fiind mai crescută în astmul refractar comparativ cu astmul uşor-moderat şi cu indivizii normali, se corelează bine cu eozinofilia din lavajul bronhoalveolar dar nu se corelează cu eozinofilia din spută sau din aspiratul bronşic şi se reduce după tratamentul cu corticosteroizi orali.

Se pare că cele mai bune metode de evaluare a controlului astmului sunt numărul de eozinofile din sputa indusă, lavaj ori aspiratul bronşic pentru astmul sever şi NO expirat pentru astmul uşor-moderat.

În concluzie, măsurătorile clinico-funcţionale sunt insuficiente pentru diagnosticul anumitor cazuri selectate şi pentru modularea tratamentului astmului bronşic. Metodele adiţionale, deşi nu au intrat în practica curentă, fiind folosite actualmente mai mult în scop de cercetare, au permis înţelegerea mecanismelor patogenice în astmul bronşic. În practica clinică însă, pentru cazurile cu limite de diagnostic, metodele respective şi-au dovedit pe deplin utilitatea.

BIBLIOGRAFIE

1. Pizzichini E, Pizzichini M, Leigh R, Djukanovici R, Sterk P. Safety of sputum induction induction. *Eur Respir J Suppl* 2002; 37: 9-18.
2. Spanevello A, Confalonieri M, Sulotta F, Romano F, Balzano G. Induced sputum cellularity. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162 (3): 1172-1174.
3. Haldar P, Pavord I. Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 6 119 (5): 1043-1052.
4. Ten Brinke A, Zvinderman AH; Sterk PJ, Rabe KJ. Factors associated with persistent airflow limitation in severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 744-748.
5. Siva R, Berry M, Pavord I. Recent insights into the relationship between airway inflammation and asthma. *Monaldi Archi Chest Dis* 2003; 59 (4): 296-299.
6. Lim S, Jatakanon A, Meah S, Oates T, Chung K, Barnes PJ. Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation in mild to moderately severe asthma. *Thorax* 2000; 55: 184-188.
7. Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C et al. Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J* 2003; 21: 433-438.
8. Taylor D, Pijnenburg M, Smith A, Jongste J. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. *Thorax* 2006; 61: 817-827.
9. Piacentini GE, Bodini A, Costella S, Viacentini L. Exhaled nitric oxide and sputum eosinopnil markers of inflammation in asthmatic children. *Eur Respir J* 1999; 13: 1386-1390.
10. Dupont LJ, Demedts MG, Verleden GM. Prospective evaluation of the validity of exhaled nitric oxide for the diagnosis of asthma. *Chest* 2003; 123: 751-756.
11. Malmberg L, Turpeinen H, Rztila P, Sarna S, Haahtela T. Determinants of increased oxide in patients with suspected asthma. *Allergy* 2005; 60 (4): 464-468.
12. Jatakanon A, Kharitonov S, Lim S et al. Effect of differing doses of inhaled budesonide on markers of airway inflammation in patients with mild asthma. *Thorax* 1999; 54: 108-114.
13. Ramirez P, Garcia R, Villamor J. Role of oxidative stress in respiratory diseases and its monitoring. *Med Clin* 2006; 127 (10): 386-396.
14. Juniper EF, Buist AS, Cox FM, Ferrie PJ, King DR. Validation of a standardized version of the Asthma Quality of Life Questionnaire. *Chest* 1999; 115: 1265-1270.
15. Sont JK, Willems LN, Bel EH, van Krieken JM, Vandenbroucke JP, Sterk PJ. Clinical control and histopathologic outcome of asthma when using airway hyperresponsiveness as an additional guide to long-term treatment. Am J Respir Crit Care Med 1999; 159: 1043-1051.
16. Green RH, Brightling CE, McKenna S et al. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 1715-1721.
17. Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Herbison GP, Taylor DR. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med* 2005; 352: 2163-2173.

CRIZE EPILEPTICE PARŢIALE CONTINUE ÎNTR-UN CAZ DE SINDROM PARANEOPLAZIC

Anca Hâncu
Universitatea "Ovidius" Constanţa
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic de Urgenţă Constanţa
Clinica de Neurologie

PARANEOPLASTIC SYNDROME PRESENTED AS EPILEPSIA PARTIALIS CONTINUA (Abstract): We describe a man of 59 years old, a smoker (20 cigarettes per day), without any pathologic background, with epilepsia partialis continua, with a relatively sudden appearance in the last 6 weeks. We purpose to find the cause of these prolonged focal seizures. The initial diagnosis of emergency was that of right side hemiballismus. The initial diagnosis on admission was prolonged right brachial myoclony. Initially I was thinking of primary tumor or secondary one but paraclinic examinations excluded this diagnosis. After 5 months I repeated cerebral MRI scan which revealed left neoplasm of cavum. After another 6 months head and neck MRI described left rhinopharyngeal neoplasm with laterocervical adenopathies, cerebral metastases secondary to bronho-pullmonary cancer with invasion mediastinal. The epilepsia partialis continua proceded with 1 year primary neoplastic process. **Key word**: EPILEPSIA PARTIALIS CONTINUA, PARANEOPLASTIC SYNDROME, BRONHO-PULLMONARY CANCER

Prezentăm cazul unui bărbat de 59 ani, fumător de 20 ţigări pe zi, fără antecedente patologice cunoscute, cu crize epileptice parţiale continue, cu debut brusc în urmă cu 6 săptămâni. Ne-am propus să găsim cauza acestor crize.

Epilepsia parţială continuă (1) reprezintă un tip de epilepsie focală motorie caracterizată prin mişcări clonice ritmice persistente la nivelul unui grup muscular, de obicei fiind localizată la nivelul feţei, membrului superior sau membrului inferior; este de fapt un status epileptic motor focal foarte persistent. Musculatura distală a membrului superior sau inferior este mai afectată faţă de cea proximală. La nivelul feţei comisura bucală şi una sau ambele pleoape sunt prinse de aceste mişcări clonice.

Crizele epileptice parţiale continue pot fi induse de leziuni cerebrale acute sau cronice, fiind un status epileptic focal motor. Există în următoarele afecţiuni (1,2): anomalii congenitale, encefalite (prima dată a fost descrisă de Kojewnikow la pacienţii ruşi suferinzi de encefalită de primăvară-vară), boli demielinizante, tumori cerebrale, boli vasculare acute (vasculite sau accidente vasculare cerebrale acute) şi afecţiuni degenerative. Traumatismele craniene şi bolile mitocondriale pot genera astfel de crize.

Leziunile vechi epileptogene pot fi activate de infecţii, hiponatremie, hiperglicemie noncetonică sau insuficienţa renală.

Aceste crize sunt prezente la bolnavii cu leziuni progresive ca în encefalită Rasmussen (1,2), posibil determinată de infecţii virale lente şi prezentă la copii şi adolescenţi (copii de 3-15 ani cu epilepsie parţială continuă, cu hemipareză progresivă şi alte deficite motorii cu atrofie cerebrală).

În multe situaţii cauza rămâne necunoscută.

PREZENTAREA CAZULUI

Am efectuat anamneza, examinarea fizică şi neurologică a pacientului. Examenul clinic neurologic a evidenţiat forţă musculară scăzută în membrul superior drept şi prezenţa mişcărilor involuntare ritmice, de amplitudine medie la nivelul membrului superior drept. Aceste mişcări sunt permanente ziua şi noaptea, fiind prezente atât în timpul stării de veghe cât şi în timpul somnului.

Aceste mişcări involuntare clonice pot fi confundate cu un sindrom extrapiramidal (mioclonii, tremor, coree, ticuri, distonie). Diagnosticul iniţial în Serviciul de Urgenţă a fost de hemibalism drept. Diagnosticul de internare în Clinica de Neurologie a fost de mioclonii subintrante brahiale drepte. Pacientul a fost colaborant şi conştient. Iniţial ne-am orientat spre un proces tumoral primitiv sau secundar, dar examenul paraclinic expus mai jos a exclus această suspiciune.

Rezultatele examinărilor paraclinice efectuate în timpul internării din perioada 26.05-25.06 2004 sunt următoarele:

- CT (tomografie computerizată) cerebrală nativă şi cu contrast: atrofie cerebrală moderată.
- CT torace şi abdomen: normale.
- IRM (imagini prin rezonanţă magnetică) cranio-cerebrală: atrofie cerebrală moderată difuză.
- Radiografia cervicală: discartroză
- Puncţia lombară: 4.06.2004: proteine 82 mg % (N: 12-60), glucoză 57 mg% (N: 40-70)
- Puncţia lombară: 14.06.2004: proteine 46 mg/dl; celule 7,3/mm^3; IgG 10,5 mg/dl (crescute)
- Hemoleucograma: Leucocite 10200/mm^3, Hb 13,6 g/dl, Ht 39,6% Trombocite 351000/mm^3,
- VSH 76mm/h, Fibrinogen 732 mg/dl, ASLO 240 u/l, Proteine totale 6,6 g/dl.
- EEG -traseu cu ritm alfa 9-10 cicli/sec prezent în ambele emisfere, hipovoltat, reactiv la deschiderea ochilor. Activitate crescută teta în culegerile anterioare. Frecvenţe rapide anterioare beta.
- EMG - în flexorul comun al degetelor mâinii drepte în repaos apar descărcări grupate de potenţiale (8-10 potenţiale/grup cu secvenţe şi ritm de repartiţie neregulat).

Coroborând datele clinice şi paraclinice s-a stabilit diagnosticul de encefalită Kojevnikov, epilepsie parţială continuă, atrofie corticală confirmată CT şi IRM. S-a instituit tratament cu Solu Medrol, Convulex, Neurontin, Rivotril, Haloperidol şi simptomatice. S-a ameliorat uşor: a scăzut frecvenţa mişcărilor involuntare.

La externare s-a recomandat un tratament complex antiepileptic (acid valproic 300 mg de 2 ori pe zi, gabapentin 300 mg de 2 ori pe zi şi clonazapam 2 mg de 2 ori pe zi) şi repetarea IRM cerebral peste 3 luni.

EVOLUŢIE

La 5 luni am repetat IRM cerebral care a evidenţiat alături de atrofia cerebrală preexistentă, leziuni de demielinizare emisferice cerebrale periventriculare de natură ischemică (arii de hipersemnal T2 şi FLAIR diseminate în substanţa albă emisferică, ventriculomegalie asimetrică fără edem de resorbţie transependimară, structuri mediane în poziţie normală), precum şi o masă infiltrativă rinofaringiană stângă (fig. 1) ce interesează *foseta Rosenmuller* cu retenţie de secreţii în urechea medie

Concluzii: neoplasm de cavum, abiotrofie cerebrală, zone de demielinizare ischemice, sinuzită maxilară bilaterală.

S-au efectuat 3 biopsii de cavum la interval de 2 luni interval între ele şi abia la a treia s-a confirmat diagnostivul de proliferare neoplazică cu celule rotunde şi fusiforme nediferenţiate, având caracter histo-

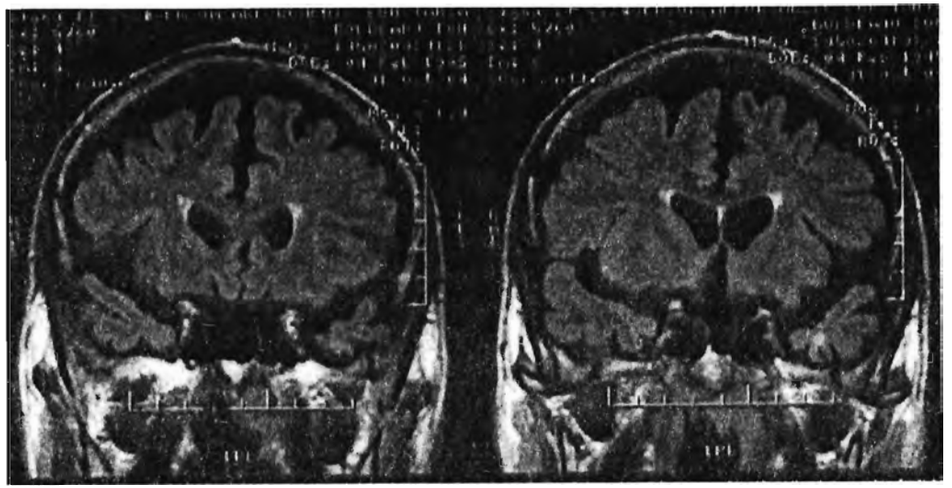


Fig. 1. Atrofia cerebrală preexistentă, ventriculomegalie asimetrică fără edem de resorbţie transependimară, structuri mediane în poziţie normală precum şi o masă infiltrativă rinofaringiană stângă

logic de carcinom anaplazic cu celulă mică „în bob de ovăz".

8-11-2004 – Buletin anatomopatologic: 4 fragmente de 0,1-0,6 cm, cenuşii, consistenţă medie; examenul microscopic: fragment de ţesut limfo-epitelial cu inflamaţie cronică nespecifică, activă, formă abcedată

10-01-2005 – Buletin anatomopatologic: examen macroscopic: 2 fragmente 0,3-0,6 cm, albicioase, cu zone de hemoragie, consistenţă scăzută; examen microscopic: fragment tisular tapetat cu epiteliu înalt pseudostratificat, ce realizează cripte, cu modificări celulare reactive de tip regenerativ; subepitelial, ţesut necrotico inflamator reprezentat de infiltrat polimorf cu predominanţa plasmocitelor cu zone abcedate; se recomandă rebiopsiere.

8-03-2005 – Buletin anatomopatologic: examen macroscopic: 4 fragmente 0,1-0,2 cm, alb cenuşii, consistenţă uşor crescută; examen microscopic: 4 fragmente tisulare de ţesut limfoid cu proliferare neoplazică malignă, cu celule rotunde şi fusiforme nediferenţiate, având caracter histologic de carcinom anaplazic cu celulă mică „în bob de ovăz"; necesită examen imunohistochimic.

S-a repetat radiografia pulmonară 9-05-2005 care a evidenţiat o opacitate macronodulară neomogenă, centrohilară dreaptă, cu diametru de 6/4 cm, imprecis delimitată (fig. 2).

Am repetat IRM cap şi gât, nativ şi contrast, 7-05-2005: –masă rinofaringiană stângă cu adenopatii laterocervicale bilaterale, cu diametre între 1-3,5 cm, mai mari pe partea stângă (fig. 3);

- mase intracerebrale cu diametre de 1-3,5 cm, intens şi neomogen gadolinofile (fig. 4);

Fig. 2. Opacitate macronodulară neomogenă, centrohilară dreaptă, cu diametru de 6/4 cm

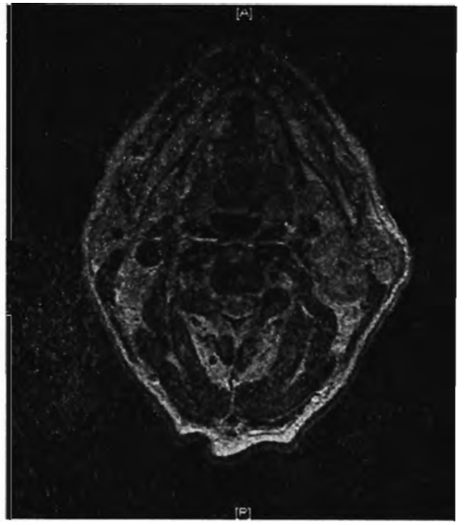


Fig. 3. Masă rinofaringiană stângă cu adenopatii laterocervicale bilaterale, cu diametre între 1-3,5 cm, mai mari pe partea stângă

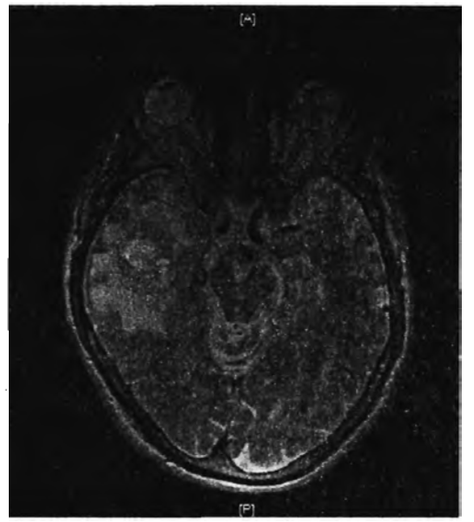


Fig. 4. Mase intracerebrale cu diametre de 1-3,5 cm, intens şi neomogen gadolinofile

- masă mediastinopulmonară superioară dreaptă.

Concluzii. Aspectul RMN este evocator de neoplasm rinofaringian stâng cu adenopatii tumorale laterocervicale. Metastazele cerebrale sunt secundare neoplasmului bronhopulmonar cu invazie mediastinală.

Diagnosticul rezultat în urma acestei evoluţii este de sindrom paraneoplazic encefalitic manifestat sub formă de epilepsie parţială continuă, în cadrul unui cancer bronho-pulmonar.

DISCUŢII

Bariety et al. 1964 descriu astfel (3) sindromul paraneoplazic: este un ansamblu de manifestări clinice variate (neurologice, hematologice, endocrine, osteoarticulare etc.) a căror exteriorizare este în raport cu existenţa unui cancer, evoluează paralel cu evoluţia cancerului, dispar odată cu ablaţia tumorii maligne şi reapar cu ocazia unei recidive sau a unei metastaze. Bariety şi colaboratorii subliniază şi cele trei caracteristici importante ale sindromului paraneoplazic: predominanţa clinică asupra tumorii primitive, diversitatea acestor manifestări clinice, şi absenţa unui substrat histologic specific. Complicaţiile neurologice paraneoplazice sunt relativ rare: 3-5%.

Toate tumorile maligne, inclusiv cele cerebrale pot genera asemenea complicaţii, dar cele mai frecvente se găsesc în epiteliomul bronhopulmonar cu celule mici; s-au mai găsit în cancerele de sân, de tiroidă, rinichi, prostată, boală Hodgkin, leucemie etc.

Leziunile paraneoplazice pot fi sub formă de encefalopatie paraneoplazică, neuropatie paraneoplazică, mielopatie paraneoplazică. etc.

În cadrul encefalopatiei paraneoplazice se pot întâlni crize de epilepsie parţială continuă. Majoritatea celor cu cancer pulmonar cu celule mici şi cu orice tip de encefalomielită paraneoplazică au anticorpi IgG (1,2) (anti Hu, sau anticorpi antineuronali tip I).

Starea generală gravă a bolnavului a impus alături de tratamentul susţinut al crizelor epileptice expus mai sus, adăugarea

numai a unui tratament simptomatic ambulator.

Diagnosticul diferenţial care se impune cel mai acut este de metastaze cerebrale microscopice care nu au putut fi evidenţiate cu metodele imagistice efectuate la începutul investigaţiilor. Nu am putut determina autoanticorpii Ig G care ar fi putut însoţi cancerul pulmonar.

CONCLUZII

Diagnosticul rezultat în urma acestei evoluţii este de sindrom paraneoplazic encefalitic manifestat sub formă de epilepsie parţială continuă, în cadrul unui cancer bronho-pulmonar. Aceste crize epileptice au precedat cu 1 an procesul neoplazic primitiv.

BIBLIOGRAFIE

1. Ropper AH, Brown RH. *Adams and Victor's Principles of Neurology*. 8th ed. McGraw Hill, 2005.
2. Samuels AM, Feske KS. *Office Practice of Neurology*. 2nd ed. Churchill Livingstone, 2003.
3. Arseni C. *Tratat de Neurologie*. vol III partea II. Bucureşti: Ed. Medicală, 1981.

NOUTĂŢI

NEUROPEPTIDUL Y ACŢIONEAZĂ DIRECT ASUPRA ŢESUTULUI ADIPOS PERIFERIC, MEDIIND OBEZITATEA INDUSĂ DE STRES ŞI SINDROMUL METABOLIC ADIACENT

Relaţia dintre obezitate şi stres rămâne în continuare discutabilă, dar s-a putut demonstra faptul că în condiţii de stres, unele persoane cresc, iar altele scad în greutate. Stresul contribuie la amplificarea obezităţii indusă prin alimentaţie, printr-un mecanism periferic derulat la nivelul ţesutului adipos abdominal, mecanism mediat prin neuropeptidul Y (NPY). Factori de stres extrem de variaţi vor conduce la eliberarea NPY din terminaţiile nervoase simpatice, care, în schimb, vor regla atât NPY cât şi receptorul său Y2 (NPY2R), printr-un proces glucocorticoid-dependent, în ţesutul adipos abdominal. Acest răspuns de tip feedback pozitiv la acţiunea NPY este urmat de creşterea masei de ţesut adipos abdominal. Eliberarea NPY şi activarea NPY2R stimulează angiogeneza ţesutului adipos, infiltrarea macrofagică, proliferarea şi diferenţierea a noi adipocite, iar în final se instalează obezitatea şi un sindrom metabolic asociat. NPY, la fel ca şi stresul, stimulează dezvoltarea ţesutului adipos, în timp ce inhibarea farmacologica a NPY2R este anti-angiogenică şi anti-adipogenică, cu reducerea obezităţii şi a tulburărilor metabolice. Manipularea activităţii NPY2R la nivelul ţesutului adipos oferă noi posibilităti de remodelare a acestuia şi de tratare a obezităţii (Kuo LE, Kitlinska JB, Tilan JU et al. Neuropeptide Y acts directly in the periphery of fat tissue and mediates stress-induced obesity and metabolic syndrome. *Nat Med* 2007; 13: 803-811).

Carmen Zamfir

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. III, nr. 3

PROFILAXIA CU ANTIBIOTICE ÎN NEUROCHIRURGIE

G. Iacob[1], Simona Iacob[2], Inimioara Cojocaru[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Carol Davila" Bucureşti
Facultatea de Medicină
Spitalul Universitar de Urgenţă Bucureşti
1 Clinica de Neurochirurgie
2 Institutul de Boli Infecţioase "Matei Balş" Bucureşti
Spitalul Colentina
3 Clinica de Neurologie

PROPHYLACTIC ANTIBIOTICS IN NEUROSURGERY (Abstract): Because of a low risk of infection (around 2-3%), prophylactic use of antibiotics in neurosurgery is a controversial issue. Some neurosurgeons consider that there are strong arguments against the use of antimicrobials (promotion of antibiotic-resistant strains of bacteria, superinfection and adverse drug reactions) and meticulous aseptic techniques could be more usseful than prophylactic antibiotics. On the other hand, despite of being rare, the consequences of a neurosurgical infection can be dramatic and may result in a rapid death, caused by meningitis, cerebritis, abscess formation or sepsis. Clinical studies emphasized that the most important factors influencing the choice of antibiotic prophylaxis in neurosurgery is the patient's immune status, virulence of the pathogens and the type of surgery („clean contaminated"- procedure that crosses the cranial sinuses, „clean nonimplant" - procedure that does not cross the cranial sinuses, CSF shunt surgery, skull fracture). Prophylaxis has become the standard of care for contaminated and clean-contaminated surgery, also for surgery involving insertion of artificial devices. The antibiotic (first/second generation of cephalosporins or vancomicin in allergic patients) should recover only the cutaneous posibily contaminating flora (*S. aureus*, *S. epidermidis*) and shoud be administraited 30' before the surgical incision, intravenously in a single dose. Most studies pointed that identification of the risk factors for infections, correct asepsia and minimal prophylactic antibiotic regimen, help neurosurgeons to improve patient care and to decrease mortality without selecting resistant germens. **Key words**: PROPHYLACTIC ANTIBIOTICS, NEUROSURGERY, RISK OF INFECTION

Infecţiile postoperatorii sunt o cauză majoră de morbiditate şi letalitate la pacienţii chirurgicali. De aceeea, utilizarea profilactică a antibioticelor este indicată în majoritatea intervenţiilor chirurgicale dacă există risc de infecţie, cu condiţia ca antibioticul ales să acopere flora contaminantă, iar riscul infecţiei să depăşească riscul legat de folosirea antibioticului. Cu toate că riscul infecţiilor în neurochirurgie este redus comparativ cu alte specialităţi chirurgicale, fiind doar 2-3% (1,2) (corelat cu strategia, calitatea gestului neurochirurgical şi progresele tehnologice), infecţiile postoperatorii în aceste cazuri sunt dramatice şi evoluează rapid, de la forme localizate (abces) la cele sistemice letale (meningită, sepsis). Profilaxia acestora s-a dovedit benefică în majoritatea trialurilor clinice atât în chirurgia spinală, cât şi în cea craniană (3,4,5) Antibioticoprofilaxia în neurochirurgie rămâne controversată atâta timp cât studii recente evidenţiază doar reducerea infecţiilor locale, mai puţin a celor sistemice, precum

şi selectarea de germeni rezistenţi (6,7,8,9). În această situaţie, atitudinea practică pendulează între perfecţionarea tehnicii de asepsie şi administrarea abuzivă, "standard" a antibioticelor cu spectru cât mai larg, la doze şi timp îndelungat, în speranţa acoperirii defectelor tehnice. În acest sens, realizarea unei percepţii clare pentru fiecare neurochirurg a principiilor de prevenţie şi tratament ale infecţiilor sistemului nervos central este esenţială; de asemenea, antibioprofilaxia trebuie adaptată fiecarui caz în parte, ţinând cont de consideraţii generale şi specifice. Profilaxia antimicrobiană: desemnează administrarea unui antibiotic înainte ca infecţia să apară, când se anticipează o minimă contaminare microbiană a plăgii operatorii, ce generează o infecţie chiar şi subclinică. Profilaxia antimicrobiană în neurochirurgie a fost uzitată încă din 1925, înainte de era antibioterapiei, folosind un antiseptic-hexamina, apoi cu o gamă largă de antibiotice de la Penicilină la Vancomicină, fiind în general apreciată ca benefică, cu toate dezavantajele ce le induce. Pe de altă parte, trebuie amintit faptul că unul din pionierii neurochirurgiei mondiale, H. Cushing înregistra o rată de infecţie postoperator de 1%, cu toate că nu folosea decât apă şi săpun. Principalele antibiotice folosite profilactic în neurochirurgie sunt redate în tab. I.

Avantajele profilaxiei antimicrobiene: evită spitalizarea prelungită sau decesul prin complicaţiile septice sistemice (meningita, sepsisul) sau locale (celulite, abcese de părţi moi, abcese profunde cerebrale sau spinale, osteomielită etc).

Dezavantajele profilaxiei antimicrobiene: constau în generarea unor posibile efecte adverse (insuficienţă hepato-renală, hipotensiune arterială etc.); reacţii alergice, potenţial letale; inducerea rezistenţei microbiane, ducând la "suprainfecţii" cu germeni rezistenţi sau fungi secundar utilizării inadecvate a antibioticelor cu spectru larg şi la răspândirea acestora în mediul de spital, implicit la bolnavii internaţi, ceea ce măreşte costul tratamentului şi prelungeşte spitalizarea. Ţinând cont de dezavantajele profilaxiei antimicrobiene, utilizarea acestora impune, ca şi pentru tehnica anestezică sau operaţia preconizată, informarea bolnavului, cu excepţia cazurilor de urgenţă.

Spre deosebire de terapia cu antibiotice, reprezentând *administrarea unui agent antibiotic în operaţii cu infecţie deja dovedită*, antibioprofilaxia în neurochirurgie urmăreşte prevenirea contaminării plăgii operatorii cu germeni care provin din flora cutanată, îndeosebi specii de stafilococ (*S. aureus*, *S. epidermidis*).

Reguli de bază în administrarea profilactică a antibioticelor în neurochirurgie:

1. Utilizarea unui antibiotic cu spectru cât mai restrâns, ţintit pe flora cutanată; este esenţială concentrarea antibioticului în câmpul operator în momentul intervenţiei.

TABELUL I

Antibiotice preferate în profilaxie în neurochirurgie (10,11)

Antibiotic	Doza standard iv	Întervalul după care se readministrează doza standard
Cefazolin	1-2 g	2-5
Cefuroxim	1,5 g	3-4
Cephradine	1g	3-4
Clindamicin	600-900 mg	3-6
Amoxicilin/clavulanat	1,2 g	2-3
Ampicilin/sulbactam	1,5 g	2-3
Metronidazol	500 mg	6-8
Vancomicin	1g in pev > 1 ora	6-12
Cotrimoxazol	960 mg	12

2. Administrarea intravenoasă, cu 30' înainte de incizia tegumentului, deobicei la inducţia anesteziei; repetarea dozei se ia în considerare dacă sunt pierderi sanguine majore (>1500 ml sânge), iar durata operaţiei depăşeşte timpul de înjumătăţire al antibioticului.

3. Doza utilizată este de regulă cea utilizată terapeutic, adaptată greutăţii corporeale.

* *De menţionat: Antibioprofilaxia va fi limitată strict la operaţie, nu şi în perioada postoperatorie (12,13).* Utilitatea profilactică a unui antibiotic este legată de nivelele tisulare bactericide pe care acesta le poate realiza în timpul intervenţiei şi în primele 3-4 ore postoperator, deci utilizarea cu mai multe zile înainte sau după actul operator nu are nici o justificare şi reprezintă de fapt adevărata modalitate de inducere a rezistenţei şi răspândirii germenilor în mediul de spital. În cazul prelungirii perioadei operatorii, pentru unele antibioticele cu timp de înjumătăţire scurt se impune readministrarea dozei (tab. I).

În alegerea schemei de profilaxie antimicrobiană se au în vedere unele consideraţii "generale" (legate de pacient, riscul infecţiei, tehnica chirurgicală) sau "specifice" (legate de tipul intervenţiei operatorii).

A. CONSIDERAŢII GENERALE

1. Factorii de risc în infecţiile postoperatorii: vârste extreme, status nutriţional, fumatul, coexistenta de infecţii la distanţă, stări de imunodepresie generate de tratamente (corticosteroizi, citostatice), neoplazii, diabet zaharat, infecţia HIV, transplant de organe în antecedente, precum şi utilizarea de materiale străine (tubulatură de drenaj, catetere intratecale pentru administrarea medicaţiei, electrozi cerebrali precum şi epidurali spinali, materiale de sinteză osoasă, de hemostază, clipuri etc.);

2. Cauzele predispozante pentru infecţiile postoperatorii sunt reprezentate de (14,15):

- flora microbiană ce colonizează tegumentul şi constituie 90% din germenii de la suprafaţa pielii şi a părului: specii de stafilococ (*S. aureus*, stafilococi cuagulazo-negativi), difteroizi şi unii bacili Gram pozitivi (*Propionobacter acnes* poate genera infecţii de şunt) sau bacili Gram negativi (*Acinetobacter*, coliformi); de menţionat capacitatea stafilococilor cuagulazo-negativi de a genera glicocalix ce se transformă într-un biofilm în ţesuturile gazdei, protejând agentul patogen de fagocitoză şi inhibând acţiunea antibioticului.
- flora microbiană din sinusurile paranazale poate genera infecţii în cazul gesturilor chirurgicale transfenoidale, ale bazei craniului. Germenii izolaţi sunt: *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus* rezistent la meticilină, enterococul rezistent la vancomicină, bacili Gram negativi, fungi (frecvent *Candida albicans*).
- calitatea precară a asepsiei din sala de operaţie şi salonul postoperator; personalul numeros existent în sala de operaţie (anestezişti, chirurgi etc.), ventilaţia, utilizarea sistemelor de aer condiţionat; calitatea sterilizării instrumentarului, mănuşilor, a materialelor chirurgicale folosite.

3. Tipul, durata şi alţi factori care influenţează creşterea ratei infecţiilor:

- tipul tehnicii neurochirurgicale, durata operaţiilor (peste 4 ore), reintervenţii (repetarea sub 30 zile a unui gest neurochirurgical)
- existenţa unei fistule de LCR (măreşte riscul de infecţie de 13 ori), coexistenţa unei infecţii în afara LCR (măreşte riscul de infecţie de pana la 6 ori)
- cu potenţial risc de infecţie, în absenţa oricărei semnificaţii statistice demonstrate sunt gesturile chirurgicale ale bazei craniului, ale sinusurilor paranazale, al cavităţilor otice; de asemenea, folosirea drenului postoperator în cazul îndepărtării corpurilor străine.

În prevenirea infecţiilor postoperatorii

sunt esenţiale: spălatul mâinilor, folosirea calotei, a măştii poziţionate pe nas, a mănuşilor sterile, a câmpurilor operatorii autocolante, raderea completă a părului la nivelul extremităţii cefalice versus folosirea şamponului antiseptic în preziua operaţiei, urmat de rasul părului strict pe traiectul inciziei.

B. CONSIDERAŢII SPECIFICE

1. *În cazul operaţiilor ce nu implică deschiderea sinusurilor craniene aerice şi în absenţa utilizării implantelor ("clean nonimplant procedures")*, flora locală este reprezentată de: *S. aureus* (50%), *stafilococi* coagulazo negativi (15%), bacili Gram negativ aerobi (15%), *Streptococcus* spp. (10%), alte specii (< 10%); profilaxia cu antibiotice trebuie să acopere spectrul menţionat, deci se poate realiza cu o cefalosporină de generaţia 1 sau 2, eficace faţă de coci Gram pozitiv, în special *S. aureus* şi a bacililor Gram-negativ (16). Studiile ample, efectuate în ultimii 20 ani, au relevat eficacitatea antibioticoprofilaxiei în gesturile neurochirurgicale "curate", folosind un antibiotic cu spectru redus, considerat a avea activitatea antimicrobiană contra agenţilor patogeni specifici secţiei sau spitalului respectiv, cu o singura doză. Se recomandă: Cephradine 1g i.v., Cefuroxime 1,5 g i.v., Cefazolin 1 g iv la pacienţi sub 80 kg şi 2 g la cei peste 80 kg. În cazul alergiei la betalactamine, se administrează Vancomicină 1 g în perfuzie, lent, cel puţin cu o oră înainte de incizie (Vancomicina are timp de înjumătăţire 3-9 ore). 'Cu toate ca s-au încercat diverse combinaţii: Cefazolin şi Gentamicină versus monoterapie cu Cefazolin sau alte variante (Piperacillin, Cloxacillin), nicio medicaţie nu s-a dovedit superioară. Folosirea altor antibiotice constituie deci alegeri suboptimale: Izoxazolilpeniciline (Oxacilina, Flucloxacilina) - nu acoperă întotdeauna spectrul de sensibilitate a speciilor de stafilococi şi este ineficace pe bacilii Gram negativ; Metronidazolul - implicarea germenilor anaerobi este foarte rară în aceste intervenţii, Vancomicină cu sau fără Gentamicină - sunt puţini germeni multirezistenţi care să justifice o atare profilaxie; Clindamicina - poate fi o alternativă pentru germenii cutanaţi, dar nu acoperă flora Gram negativă.

2. *Intervenţii ce implică deschiderea sinusurilor craniene aerice, aborduri complexe ale bazei craniului, aborduri transfenoidale, aborduri transorale ("clean contaminated procedures")*. Operaţiile neurochirurgicale cu traversarea nazo şi orofaringelui implică contaminarea cu o floră locală foarte variată, inclusiv anaerobi. Antibioprofilaxia în aceste intervenţii se va face cu combinaţii de Blactamine/inhibitori de betalactamaze (clavulanat sau sulbactam) sau asocieri cu metronidazol: Amoxicilină/clavulanat 1,2 g intravenos la inducţia anesteziei; Cephradine 1 g intravenos şi Metronidazol 500 mg intravenos la inducţia anesteziei; Cefuroxime 1,5 g intravenos şi Metronidazol 500 mg intravenos la inducţia anesteziei. În cazuri rare, selectate: Cefotaxime 1 g IV la pacienţi < 80 kg şi 2g la cei > 80 kg. La bolnavii alergici la penicilină se recomandă Gentamicină şi Metroniodazol.

3. *Intervenţii de implantare a diferitelor corpuri straine, inclusiv drenaj al LCR („surgery involving insertion of artificial devices")*. Chirurgia de şunt are o rată de infecţie > 3% iar majoritatea autorilor recomandă profilaxie antibiotică; nu există însă un consesns asupra metodei de administrare a antibioticelor. Infecţiile postoperatorii sunt predominent generate de: stafilococi coagulazo negativi (90%), *S. aureus* (13-27%), bacili Gram negativ aerobi (10-20%). Profilaxia cu antibiotice în operaţiile de drenaj ale LCR se face uzitând şunturile a căror tubulatură este impregnată cu Rifampicină + Clindamicină, ce previn colonizarea microbiană şi administrarea unei singure doze de Cefradine 1 g iv sau Cefuroxime 1g iv. Asocierea Vancomicină + Gentamicină (preferabil intraventricular) având spectrul cel mai larg de acoperire este utilă îndeosebi bolnavilor cu ventriculită (17,18). În cazul drenajelor ventriculare externe utilizate pentru monitorizarea presiunii intracraniene în traumatisme, tumori, este demonstrat că evitarea infecţiilor se face prin acurateţea tehnicii de implantare, nu prin amploarea antibioterapiei profilactice.

4. *Fracturi craniene cu fistulă LCR ("skull fracture , CSF sunt surgery")*. În cazul intervenţiei neurochirurgicale în acest tip de fracturi, se recomandă utilizarea: Cefotaxime 1 g intravenos la pacienţi < 80 kg şi 2g la cei > 80 kg sau Cotrimoxazol 960 mg. Meningita reprezintă o complicaţie severă a unei fracturi craniene soldată cu fistulă LCR: 11-25% din bolnavi cu fistulă LCR se contaminează, iar specia microbiană cea mai frecvent întâlnită fiind *S. pneumoniae*. Profilaxia meningitei secundare la pacienţii cu fistulă LCR nu este indicată, având în vedere riscul legat de rezistenţa şi efectele adverse ale utilizării antibioticelor pe termen lung (19).

5. *În chirurgia spinală rata infecţiilor este scăzută; pentru intervenţiile cu inserţie de material străin, prelungite, se utilizează:* Cefazolin 1 g intravenos la pacienţi sub 80 kg şi 2 g la cei peste 80 kg sau Vancomicină, în cazul alergiei la betalactamine (20).

CONCLUZII

În intervenţiile neurochirurgicale se impune:

- asigurarea unei protecţii optime pentru bolnavul care urmează să fie supus intervenţei chirurgicale, prin evaluarea măsurilor de asepsie ce asigură o protecţie optimală;
- utilizarea profilaxiei antibiotice şi informarea pacientului, folosind scheme minime, adaptate factorilor de risc specifici intervenţiei operatorii şi statusului pacientului.

BIBLIOGRAFIE

1. Geraghty J, Freely M. Antibiotic prophylaxis in neurosurgery. A randomized controlled trial. *J Neurosurg* 1984; 60: 724-726.
2. Tenney J, Vlahov D, Salcman M et al. Wide variation in risk of wound infection following clean neurosurgery. *J Neurosurg* 1985; 62: 243-247.
3. Young RF, Lawner PM. Perioperative antibiotic prophylaxis for prevention of postoperative neurosurgical infections. A randomized clinical trial. *J Neurosurg* 1987; 66: 701-705.
4. Bullock R, Van Dellen J, Ketelbey W et al. A double-blind placebo-controlled trial of perioperative prophylactic antibiotics for elective neurosurgery. *J Neurosurg* 1988; 69: 687-691.
5. Yu CT, Codamos LJ, Coronel RF. Antibiotic prophylaxis in non-shunt, clean cranial surgical procedures: a meta-analysis. *Phil J Microbiol Infect Dis* 2000; 29 (2): 33-36.
6. Korinek A-M, Baugnon T, Golmard J-L. Risk factors for adult nosocomial meningitis after craniotomy: role of antibiotic prophylaxis. *Neurosurg* 2006; 59 (1): 126-133.
7. Kanafani ZA, Dakdouki GK, El-Dbouni O, Bawwab T, Kanj SS. Surgical site infections following spinal surgery at a tertiary care center in Lebanon: Incidence, microbiology, and risk factors. *Scand J Infect Dis* 2006; 38 (8): 589-592.
8. Brandt RA, Feres jr H. Prophylactic antibiotics in neurosurgery *Arq Neuropsiquiatr* 1979; 37 (1): 42-47.
9. Bullock R, Van Dellen J, Ketelbey W et al. A double-blind placebo-controlled trial of perioperative prophylactic antibiotics for elective neurosurgery. *J Neurosurg* 1988; 69: 687-691.
10. *** ASHP therapeutic guidelines on antimicrobial prophylaxis in surgery. *Am J Health Syst Pharm* 1999; 56: 1839-1888.

11. Whitby M, Johnson BC, Atkinson RL, Stuart G. The comparative efficacy of intravenous cefotaxime and trimethoprim/sulfamethoxazole in preventing infection after neurosurgery: a prospective, randomized study. *Br J Neurosurg* 2000; 14 (1): 13-18.
12. Burke JF. The effective period of preventive antibiotic action in experimental incisions and dermal lesions. *Surg* 1961; 50: 161-168.
13. Classen DC, Evans RS, Pestotnik SL, Horn SD, Menlove RL, Burke JP. The timing of prophylactic administration of antibiotics and the risk of surgical wound infection. *N Engl J Med* 1992; 326: 281-286.
14. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC. Guidelines for the prevention of surgical site infection, 1999. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20: 247-280.
15. Simmons BP. Guideline for prevention of surgical wound infections. *Infect Control* 1982; 3: 185-196.
16. McCutcheon T, LaPointe M, Osenbach RK, Haines SJ. Choice of antibiotics in the prophylaxis and treatment of common neurosurgical problems. In: Batjer H, Loftus C editors. *Textbook of Neurological Surgery*. vol. 4. Philadelphia: Lippincott-Raven, 2002, 3098-3107.
17. Brown EM, deLouvois J, Bayston R, Hedges AJ, Johnston RA. Antimicrobial prophylaxis in neurosurgery and after head injury. *Lancet* 1994; 344: 1547-1551.
18. Langley JM, LeBlanc JC, Drake J, Milner R. Efficacy of antimicrobial prophylaxis in placement of CSF fluid shunts: meta-analysis. *Clin Infect Dis* 1993, 17: 98-103.
19. Friedman JA, Ebersold MJ. Persistent posttraumatic cerebrospinal fluid leakage. *Neurosurg Focus* 2000; 9 (1): 25-32.
20. Barker FG II. Efficacy of prophylactic antibiotic therapy in spinal surgery: a meta-analysis. *Neurosurg* 2002; 51 (2): 391-401.

NOUTĂŢI

REALIZAREA ECHITĂŢII ÎN CEEA CE PRIVEŞTE STAREA DE SĂNĂTATE: DE LA CAUZE LA REZULTATE CORECTE

Starea de sănătate este în acelaşi timp un deziderat general valabil şi o necesitate umană de bază. Dezvoltarea unei societăţii, care este bogată sau săracă, poate fi apreciată prin prisma stării de sănătate a populaţiei respective, prin compararea accesului la servicii medicale al diferitelor categorii sociale şi prin gradul de protecţie în cazul îmbolnăvirii. Echitatea în ceea ce priveşte sănătatea este un obiectiv central în activitatea *Comisiei pentru Factorii Determinanţi ai Stării de Sănătate*. O ameliorare a acestei echităţi – la nivel global şi naţional – implică o abordare mai largă decât cea focalizată pe cauza imediată a bolii. Mai mult decât atât, comisia propune identificarea „cauzelor generatoare de cauze" cum ar fi structura fundamentală a ierarhiei sociale, care influenţează condiţiile în care oamenii cresc, trăiesc, muncesc şi îmbătrânesc. Acum este momentul pentru o astfel de abordare, nu doar din considerentul că o stare mai bună de sănătate are şi conotaţii economice, ci mai ales din motive ce ţin de echitate. Protestele împotriva inechităţii s-au intensificat în ultimii ani în numeroase ţări şi tind să capete proporţiile unei mişcări mondiale. Comisia mai sus amintită propune ca asigurarea echităţii în ceea ce priveşte sănătatea să reprezinte elementul de coordonare dar şi de susţinere al acestei mişcări (Marmot M. Achieving health equity: from root causes to fair outcomes. *Lancet* 2007; 370: 1153-1163).

F.D. Petrariu

COLABORAREA NEUROCHIRURG - NEUROPATOLOG ÎN DIAGNOSTICAREA TUMORILOR CEREBRALE

Dana Turliuc[1], Gabriela Florenţa Dumitrescu[2], Anca Indrei[3]
Spitalul Clinic de Urgenţă Nr. 3 "Sfânta Treime" Iaşi
1 Secţia de Neurochirurgie
2 Serviciul de Anatomie Patologică
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
3 Disciplina de Anatomie şi Embriologie

NEUROSURGEON-NEUROPATHOLOGIST COLLABORATION IN CEREBRAL TUMORS DIAGNOSIS (Abstract): The aim of the neurosurgical treatment in neurooncology is multiple: diagnostic (obtaining of a precise hystopathological diagnosis to improve the treatment and the further prognosis), symptomathic (the improvement of the neurological clinical features by decreasing intracranian pressure) and therapeutic (to obtain a cytoreductor treatment, by complete or partial exeresis of the tumoural mass). To establish a precise hystopathological diagnosis, during the intervention and latter, on the paraffin sections, the neuropathologist must examine the neurosurgical drawings knowing the history of the illness, the clinical and radiological aspects of the case in study, which complains a good cooperation between neurosurgeon and neuropathologist. To initiate the procedures of hystopathological processing of various neurosurgical drawings, the neuropathologist must understand very well the surgical procedure. This is the reason of this study: to present different neurosurgical technics; the choose of one of these essentially depends on the location and size of the cerebral tumour, on neuroradiological characteristics and presumptive hystopathological diagnosis and on the neurological status, the age and the general condition of the pacient. **Key words**: NEUROSURGEON, NEUROPATHOLOGIST, CEREBRAL TUMOURS, BIOPSY

Diversitatea intrinsecă, etiologică şi evolutivă, a tumorilor cerebrale le înscrie într-un larg context multidisciplinar ce implică neurochirurgii, neuroradiologii, neuropatologii şi neurooncologii, context în care este esenţial ca fiecare specialist să cunoască posibilităţile şi mai ales limitele diagnostice ale fiecărei metode, pentru ca astfel să se evalueze cât mai exact tipul şi potenţialul evolutiv ale acestor neoplazii.

În serviciile de neurochirurgie, anatomopatologul, adesea investit cu apelativul de „neuropatolog", dat fiind domeniul strict al specializării lui, se găseşte, frecvent, în dificultate în condiţiile unei biopsii cerebrale, mai ales când aceasta are dimensiuni reduse, provine de la marginea unei tumori astrocitare, iar neurochirurgul solicită distincţia imediată între un astrocitom cu grad scăzut de malignitate („low-grade") şi o glioză reacţională. Neurochirurgul are însă obligaţia de a informa Laboratorul de Anatomie Patologică despre operaţiile planificate care ar putea duce la obţinerea unei biopsii. În acelaşi timp, neuropatologul trebuie să-l avertizeze pe neurochirurg asupra probei de prelevat, menţionându-i eventualitatea unor fixări speciale sau necesitatea obţinerii de ţesut pentru culturi de celule (1,2).

TABELUL I

Frecvenţa relativă a celor mai comune neoplasme pediatrice şi ale adultului la nivelul SNC

COPII			ADULŢI		
Localizare	**Diagnostic şi frecvenţă**		**Localizare**	**Diagnostic şi frecvenţă**	
FOSA ANTERIOARĂ	Diferite tipuri de neoplasme	33%	FOSA ANTERIOARĂ	Glioame Meningioame Metastaze Adenoame pituitare Diferite TOTAL	3% 3% 12% 5% 4% 67%
FOSA POSTERIOARĂ	Astrocitoame Meduloblastoame Ependimoame Diferite TOTAL	26% 24% 14% 3% 67%	FOSA POSTERIOARĂ	Schwanoame Diferite TOTAL	8% 25% 33%

Neuropatologul trebuie să examineze biopsiile cerebrale numai cunoscând istoricul bolii actuale, aspectele clinice şi radiologice ale cazului examinat, localizarea precisă a leziunii, precum şi vârsta şi sexul pacientului (2,3), deoarece SNC nu este doar un simplu organ, ci este o colecţie complexă de sisteme neuroanatomice cu diferite derivate şi funcţii, iar categoriile tumorale pediatrice prezintă anumite entităţi patologice cu anumite frecvenţe, cu totul diferite de cele apărute în perioada maturităţii sau la vârstnici (tab. I) (2).

Riscul unui diagnostic greşit şi al unei operaţii neprofitabile şi ne-necesare este cu atât mai mic cu cât ambele părţi, atât neurochirurgul, cât şi neuropatologul aderă la aceste principii călăuzitoare (1).

În vederea instituirii procedurilor de prelucrare histopatologică a variatelor prelevate neurochirurgicale, neuropatologul trebuie să înţelegă foarte bine procedura chirurgicală (tab. II.).

Ideal ar fi ca scopul intervenţiei neurochirurgicale să fie efectuarea unei exereze complete a tumorii cerebrale. Înalta funcţionalitate a SNC obligă la relativizarea acestui concept şi limitează posibilităţile de exereză funcţie de riscurile apariţiei sechelelor operatorii în vederea păstrării funcţionalităţii şi a calităţii vieţii pacientului. Cea mai mare parte a tumorilor cerebrale benigne, cum ar fi meningioamele şi schwanoamele, pot fi rezecate în totalitate. Unele localizări, însă, în particular cele de la baza craniului, nu permit o o exereză completă

TABELUL II

Tipurile de proceduri neurochirurgicale care asigură cel mai frecvent ţesut pentru prelucrarea histologică (după Mc Keever şi Blaivas, 1989)

Categoriile majore de specimene neurochirurgicale	**Tipurile de proceduri neurochirurgicale**
A. Biopsia cerebrală primară pentru diagnostic	a. Craniotomia sau craniectomia şi biopsia deschisă b. Biopsia stereotaxică cu acul
B. Biopsie cerebrală secundară	a. Pentru a obţine un efect terapeutic b. Pentru a monitoriza efectul terapeutic c. Dacă biopsia primară nu s-a materializat într-un diagnostic concludent
C. Excizia în scop terapeutic	a. Evaluarea marginilor exciziei b. Confirmarea leziunii

din cauza posibilelor complicaţiilor majore. Leziunile intracerebrale primitive au în majoritatea cazurilor origine glială şi prezintă un caracter infiltrativ, ceea ce permite doar o exereză chirurgicală subtotală, deşi neurochirurgul intenteză o rezecţie largă. Leziunile cerebrale secundare, reprezentate de metastazele cancerelor sistemice, sunt în general bine delimitate şi se pretează la exereză totală, mai ales în cazul în care leziunea este unică, voluminoasă şi simptomatică, iar exereza sa joacă un rol prognostic semnificativ.

Deoarece în neurooncologie administrarea tratamentelor adjuvante standardizate sau a protocoalelor experimentale necesită diagnostic histologic precis, în prezenţa unei tumori cerebrale evolutive a cărei localizare contraindică un abord chirurgical direct, se impune realizarea unei biopsii, cel mai adesea în condiţii stereotaxice.

A. BIOPSIA CEREBRALĂ PRIMARĂ ÎN SCOP DIAGNOSTIC

În cele mai multe instituţii neurochirurgicale din lume, biopsia cerebrală primară se realizează prin craniotomie sau craniectomie. În ultimii 20 de ani, însă, biopsia stereotaxică dirijată prin tomografie computerizată (Computer Tomography, CT) şi efectuată asupra leziunilor localizate în regiuni vitale şi sensibile este în creştere în practica neuro-chirurgicală (2,4).

a. Craniotomia, craniectomia şi biopsia deschisă

Deschiderea cutiei craniene necesită fie secţionarea voletului osos, care va fi recuperat la sfârşitul intervenţiei (craniotomia), fie o trepanaţie lărgită, cu sacrificarea fragmentelor osoase (craniectomia). Deschiderea durei mater asigură accesul fie direct asupra tumorii, în cazul când aceasta este superficial localizată, fie asupra parenchimului cerebral care o acoperă, caz în care abordul se face pe cale extracerebrală, prin retractarea parenchimului cerebral sau pe cale intra- sau transcerebrală (cerebrotomie), în funcţie de localizarea şi de natura tumorii.

Datele de imagistică sunt indisolubil legate de contextul clinic şi neuropatologic. Imagistica tumorilor cerebrale s-a modificat profund în ultimele decenii, prin apariţia CT şi a RMN care reprezintă astăzi elementele cheie ale confruntărilor interdisciplinare pre- şi intraoperatorii dominate de contextul clinic şi mai ales de datele neuropatologice. Alegerea uneia sau alteia din cele două tehnici imagistice este, în mod esenţial ghidată de contextul clinic. Aportul neuroimagisticii constă în asigurarea unei orientări diagnostice şi asupra localizării cât mai exacte a unei tumori cerebrale, ceea ce permite chirurgului un abord corect al respectivei leziuni.

Când se efectuează craniotomia şi biopsia deschisă, neurochirurgul are imaginea macroscopică a leziunii, astfel că el poate avertiza neuropatologul asupra aspectului *in situ* al leziunii respective. De mare ajutor pentru diagnostic sunt observaţiile descriptive asupra marginii, culorii, consistenţei leziunii respective, precum şi aspectul ţesutului nervos din jur (2).

b. Biopsia stereotaxică

Biopsia stereotaxică este o manoperă neurochirurgicală practicată în ţările occidentale din anii '70 asupra leziunilor intracraniene ce nu pot fi supuse craniotomiei deschise, fie din cauza localizării prea profunde sau în zone importante funcţional, fie datorită apariţiei lor la categorii de pacienţi cu risc mare pentru o intervenţie neurochirurgicală extinsă (2,4,5,6,7).

Dezvoltările tehnologice recente au permis apariţia unui concept nou în neurochirurgie: neuronavigaţia care permite ghidarea cu o precizie milimetrică a neurochirurgului pe parcursul întregii intervenţii, reprezintă un ajutor considerabil şi a devenit un standard nou de calitate în tratamentul chirurgical al tumorilor cere-

brale. Fundamentele neuronavigaţiei se găsesc în tehnica neurochirurgiei stereotaxice care este utilizată de mai mulţi ani pentru realizarea biopsiilor leziunilor cerebrale profunde. Principiul general al acestui tip de abord neurochirurgical poate fi definit ca utilizarea tehnicilor care permit menţinerea unei corespondenţe precise între poziţia instrumentelor operatorii în timpul intervenţiei şi datele imagistice reprezentând acelaşi spaţiu. Această corespondenţă spaţială precisă este obţinută graţie utilizării unui sistem de referinţă plasat sub capul pacientului care poate fi fie un cadru de stereotaxie rigid (stereotaxia clasică – utilizată pentru biopsia tumorilor cerebrale), fie de tipul markerilor cutanaţi sau transcutanaţi (neuronavigaţia – utilizată pentru rezecţia tumorilor cerebrale). Stereotaxia şi neuronavigaţia se bazează, în mod esenţial, pe conceptul de neurochirurgie ghidată prin imagistică.

Actualmente, coordonatele stereotaxice ale locului biopsiei sunt stabilite prin CT sau RMN, putându-se astfel renunţa la dificilele calcule matematice prin care, în trecut, neurochirurgii puteau aproxima aceste coordonate. În ultimii ani, pentru reducerea erorilor de prelevare, în special în cazul glioamelor cu malignitate înaltă (glioame „high-grade"), care, uneori, pot fi incorect gradate ca tumori cu malignitate joasă (glioame „low-grade"), se foloseşte o metodă complementară CT sau rezonanţei magnetice nucleare (MRI, Magnetic Resonance Image), anume tomografia computerizată cu emisie de fotoni (SPECT, Single Photon Emission Computed Tomography) cu clorură de thaliu^{201} (Ti^{201}). Cu această metodă se poate calcula gradul preluării Ti^{201} în aria tumorii respective comparativ cu regiunea cerebrală contralaterală (4). Astrocitoamele „low-grade" (gradul I şi II, OMS) prezintă, de obicei, un index al gradului de legare a Ti^{201} mai mic decât cele clasificate ca fiind „high-grade" (grad III şi IV, OMS) (8).

Realizarea biopsiei stereotaxice sub ghidaj CT sau RMN este o tehnică de rutină în prezenţa tumorilor cerebrale profunde, inoperabile sau la care diagnosticul histologic trebuie obţinut înaintea tuturor deciziilor terapeutice ulterioare (fig. 1).

Graţie tehnicilor informatice actuale, ansamblul informaţiilor imagisticii stereotaxice poate asigura vizualizarea tridimensională a tumorii, iar traiectoria biopsiei poate fi planificată în siguranţă funcţie de datele anatomice şi funcţionale proprii fiecărui pacient (fig. 2, 3, 4). Materialul bioptic se obţine prin intermediul sistemului stereotaxic, folosind fie ruta transcerebeloasă suboccipitală, fie cea transfrontală (7, 9), în funcţie de localizarea leziunii. Se prelevă un număr variabil de mostre bioptice (de obicei între 1 şi 5), funcţie de materialul obţinut (dacă acesta este sau nu adecvat) (6).

Pentru a putea evita focarele necrotice, ce apar frecvent în glioamele maligne sau în metastaze, şi pentru identificarea porţiu-

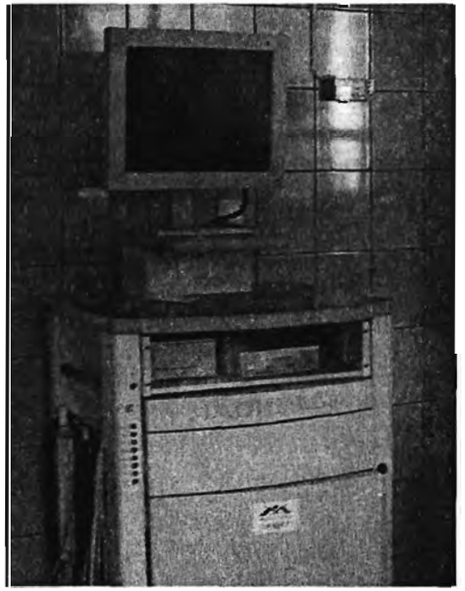


Fig. 1. Sistem de neuronavigaţie folosit în Spitalul Clinic de Urgenţă „Sfânta Treime" Iaşi

Fig. 2. Planificarea unei intervenţii neurochirurgicale prin neuronavigaţie sub ghidaj CT a unei tumori cerebrale

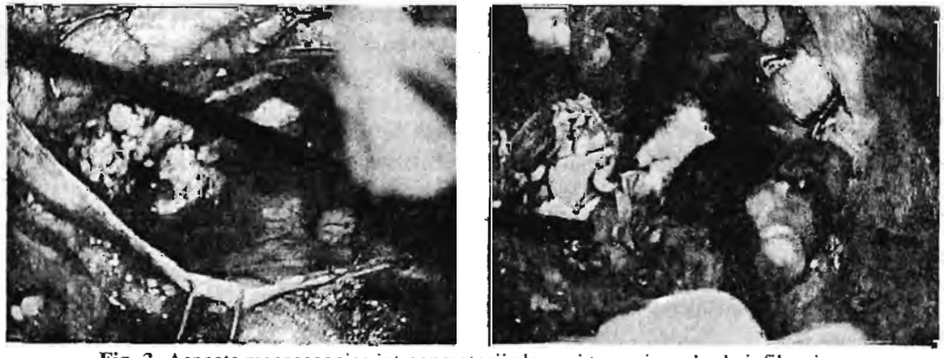


Fig. 3. Aspecte macroscopice intraoperatorii ale unei tumori cerebrale infiltrative

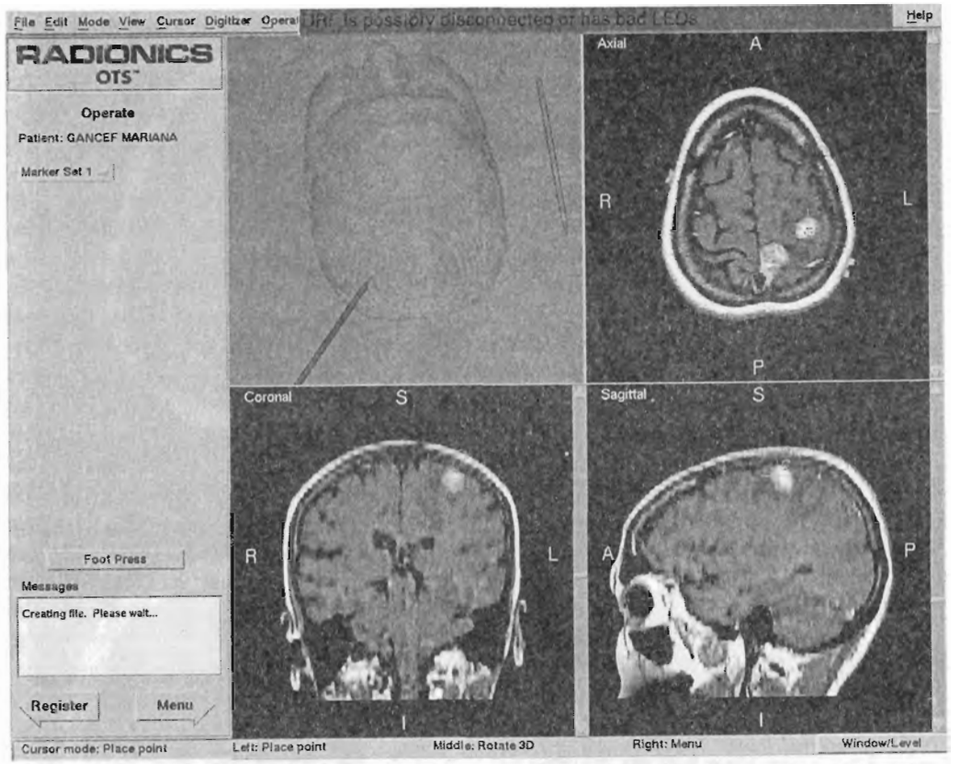


Fig. 4. Planificarea unei intervenţii neurochirurgicale prin neuronavigaţie sub ghidaj CT a unei metastaze cerebrale

nilor viabile reprezentative ale unei tumori cerebrale maligne se poate folosi, intraoperator, ecografia intraoperatorie (10).

I. Avantajele biopsiei stereotactice:

1. Este o manoperă uşor de realizat (în condiţii tehnice corespunzătoare) (11).

2. Este relativ inofensivă, fiind aproape deloc invazivă (12), căci mortalitatea şi morbiditatea determinate de această tehnică sunt mai scăzute (1% mortalitate şi 4% morbiditate), dacă indicaţia este stabilită corect şi traiectoria este aleasă în mod judicios (4,6,9,11,12,13,14). Riscul principal este apariţia unor hemoragii (8%), infecţii sau a unui deficit motor (14%) (10).

3. Nu necesită anestezie generală sau necesită doar o anestezie superficială (11).

4. Poate fi aplicată pacienţilor vârstnici şi copiilor (11).

5. Durata spitalizării este redusă comparativ cu procedurile extinse (15).

6. Poate aborda leziuni focale de numai câţiva mm în diametru şi localizate în regiuni profunde şi importante funcţional, aşa cum este cazul astrocitoamelor talamice şi pontine (2,10,11).

7. Deoarece diagnosticul exact al unei tumori cerebrale este imposibil în ciuda progreselor neuroimagistice, biopsia stereotaxică are mare importanţă în stabilirea diagnosticului definitiv şi, ulterior, a tratamentului corespunzător (7,12,15,16). De menţionat că, pentru glioamele maligne profunde şi de linie mediană, biopsia stereotaxică, urmată de radioterapie, pare să fie cea mai rezonabilă modalitate de tratament (17,18).

8. La pacienţii afectaţi de tumori gliale, biopsiile stereotaxice seriate, combinate cu CT corespunzătoare, permit gradarea histologică, definirea modalităţii de creştere la graniţele tumorii, precum şi delimitarea mai precisă a volumului tumoral (15,19).

9. Tehnica permite repetarea prelevării de ţesut atunci când cursul clinic ridică unele probleme de diagnostic (4).

II. Limitele biopsiei stereotaxice:

1. Deoarece mostra tisulară obţinută prin biopsie stereotaxică este mică (chiar de numai 1 mm în diametru şi 1 cm lungime), există riscul stabilirii unui diagnostic incorect sau al subestimării gradului histologic dacă se utilizează doar această tehnică. O biopsie stereotaxică realizată din marginea unui gliom nu este, adesea, reprezentativă pentru întreaga tumoră. Chiar şi atunci când se obţine ţesut din masa tumorală, trebuie luată în considerare marea heterogenitate histologică a tumorilor gliale şi, îndeosebi a celor de natură astrocitară (20). Adesea, în astrocitoamele anaplazice şi în glioblastoamele multiforme, apare un amestec de arii de astrocitom bine diferenţiat şi arii anaplazice. Abilitatea de a aprecia această heterogenitate histologică este strâns legată de dimensiunile fragmentului prelevat şi trimis spre examinare neuropatologului.

Paulus şi Peiffer (1989) evidenţiază importanţa probelor extensive de ţesut, recomandând examinarea cu atenţie a unui număr mare de câmpuri microscopice de pe secţiuni seriate, urmărind depistarea variaţiilor nucleare în dimensiuni, formă şi colorabilitate (20).

Glantz et al. au găsit că biopsia stereotaxică a diagnosticat un număr disproporţionat de mare de astrocitoame anaplazice şi un număr foarte mic de glioblastoame multiforme comparativ cu rezecţia deschisă. Caracteristicile clinice ale acestor pacienţi au sugerat, însă, că unele diagnostice bioptice de astrocitom anaplazic au subestimat adevăratul grad tumoral (4).

2. În cazul prelevatelor obţinute prin biopsie stereotaxică nu există o imagine macroscopică directă a leziunii *in situ*. De aceea, mişcarea acului la 1 cm distanţă poate duce la obţinerea unui ţesut necrotic sau gliotic, situaţie în care nu se poate stabili un diagnostic concludent.

Acest efect de „cutie neagră" sugerează importanţa monitorizării biopsiilor stereotaxice cu secţiuni la gheaţă. Atunci când secţiunile la gheaţă indică prelevarea unei zone bune pentru diagnostic, neurochirurgul trebuie să preleve o altă mostră pentru secţiuni permanente şi să o introducă în fixator (2).

3. Există riscul ca fragmentul tisular prelevat să fie foarte mic, vacuolat, distorsionat datorită traumei şi numai câteva celule centrale să fie bine prezervate şi în aliniamentul propriu tumorii respective. Dacă acul nu este destul de ascuţit, neoplasmele astrocitare cu grad mic de malignitate, fiind mai ferme, nu pot fi prelevate fără să apară artefacte (10).

Tumorile cerebrale non-gliale de natură conjunctivă sunt mai dure decât glioamele şi tind să reziste la captură prin acul de aspiraţie. Relativa dificultate a aspirării specimenului este deci o cheie de diagnostic importantă, deoarece glioamele tind să fie aspirate cu uşurinţă, iar neoplasmele non-gliale tind să fie refractare (2).

4. Astrocitoamele bine diferenţiate, din păcate cele mai frecvente în talamus şi trunchiul cerebral, sunt compuse din astrocite mature. Asemenea tumori sunt dificil de deosebit de substanţa albă normală sau de o glioză reactivă dacă sînt disponibile pentru examinarea microscopică doar fragmente tisulare mici. Dacă neuropatologul este familiarizat cu frotiurile sau amprentele şi poate identifica ţesutul cerebral normal în aceste preparate, ele pot fi preferate secţiunilor la gheaţă în diagnosticul intraoperator realizat pe specimene mici de biopsii obţinute cu acul (10).

B. BIOPSIA CEREBRALĂ SECUNDARĂ

Biopsiile secundare sunt biopsii repetate ale aceleiaşi leziuni sau din imediata ei vecinătate. Cheia înţelegerii şi interpretării biopsiei secundare este revederea biopsiei primare a cazului respectiv (2).

Dacă biopsia primară, efectuată în scop diagnostic nu a fost o excizie chirurgicală sau a fost o biopsie intenţionată a fi excizională, dar a fost incompletă, motivul major pentru o biopsie secundară poate fi obţinerea unui efect terapeutic.

Dacă biopsia secundară urmează biopsiei primare la cîteva luni, neuropatologul trebuie să aprecieze extinderea exciziei leziunii respective. Cunoaşterea rezultatului histopatologic obţinut la biopsia primară simplifică această confirmare (2).

Dacă biopsia secundară este efectuată după luni sau ani de zile de la biopsia primară, neuropatologul trebuie să-şi exprime opinia asupra efectului terapiei. Dovada răspunsului la tratament, cum ar fi, de exemplu, apariţia necrozei, trebuie să fie notată (2).

Biopsiile secundare efectuate după radioterapie, chimioterapie sau terapiile prin embolizarea vasculară a tumorii sau chiar numai după ce s-a intervenit neurochirurgical pot pune probleme serioase de diagnostic anatomopatologic, căci apar alterări morfologice de tipul necrozei. Necroza spontană de coagulare într-un astrocitom cerebral sugerează, de fapt, că este vorba de un glioblastom multiform. Pe de altă parte, dacă necroza se găseşte într-un astrocitom biopsiat secundar după iradiere sau chimioterapie, poate reprezenta doar un bun rezultat terapeutic.

C. EXCIZIA ÎN SCOP TERAPEUTIC

Strategia operatorie utilizată pentru exereza unei tumori cerebrale depinde în mod esenţial de natura sa. Leziunile benigne de talie mică pot fi excizate în bloc. Chirurgia citoreductoare a tumorilor primitive infiltrative se poate face prin tumorectomie, dacă chirurgul vizualizează limitele macroscopice. Realizarea unei lobectomii permite, în general, o exereză largă şi uneori completă. Caracterul circumscris al metastazelor intracerebrale permite o exereză relativ exactă a leziunilor uşor accesibile.

Categoriile de rezecţie terapeutică includ:

1. exereză macroscopică totală (100%) a masei tumorale vizibile;
2. exereză subtotală (99–95%) radicală;
3. exereză subtotală (95–75%);
4. exereză parţială (75–10%) (2).

Rezecţia macroscopică totală a tumorilor cerebrale, inclusiv a celor astrocitare, este mai dificil de realizat decât în alte organe.

CONCLUZII

Deoarece neurochirurgul deţine informaţiile clinice şi imagistice legate de tumora cerebrală asupra căreia urmează să intervină, el trebuie să ofere toate aceste date şi neuropatologului cu care este necesar să conlucreze strâns, întrucât numai astfel se poate ajunge la un diagnostic cât mai exact al unei leziuni cerebrale. De mare ajutor pentru diagnosticul neuropatologic sunt, de asemenea, şi observaţiile descriptive intraoperatorii asupra marginii, culorii, consistenţei leziunii respective, precum şi aspectul ţesutului nervos din jur. Este preferabil ca neurochirurgul să cheme neuropatologul în sala de operaţie pentru a-l informa cu datele de mai sus şi pentru a se consulta cu acesta în privinţa diagnosticului afecţiunii cerebrale pe care o operează.

Preluând fragmentul tisular prelevat de neurochirurg, neuropatologul decide, în continuare, cum este mai bine să fie repartizat acesta: pentru frotiuri şi pentru secţiuni la gheaţă (când se doreşte un diagnostic rapid), cât şi pentru prelucrare histologică de rutină.

BIBLIOGRAFIE

1. Esiri M, Oppenheimer R D. *Diagnostic Neuropathology*. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1989.
2. McKeever P E, Blaivas M. The Brain, Spinal Cord and Meninges. In Sternberg SS editor. *Diagnostic Surgical Pathology*. vol. I, New-York: Raven Press Ltd., 1989, 315-393.
3. Martinez AJ, Pollack I, Hall WA, Lunsford DL. Touch preparations in the rapid intraoperative diagnosis of central nervous system lesions and paraffin - embedded sections. *Modern Pathol* 1988, 1 (5): 378-384.
4. Glantz MJ, Burger PC, Herndon JE et al. Influence of the type of surgery on the histologic diagnosis in patients with anaplastic gliomas. *Neurol* 1991, 41: 1741-1744.
5. Burger PC. Pathology of brain stem astrocytomas. *Pediatric Neurosurg* 1996; 24 (1): 35-40.
6. Colombo F, Benedetti A, Alexandre A. Stereotactic exploration of deep-seated or surgically unamenable intracranial space occupying lesions. *J Neurosurg* 1980; 24 (3-4): 173-177.
7. Abernathey CD, Camacho A, Kelly PJ. Stereotaxic suboccipital transcerebellar biopsy of pontine mass lesions. *J Neurosurg* 1989; 70 (2): 195-200.
8. Burkard R, Kaiser KP, Weiler H et al. Contribution of thallium - 201 - SPECT to the grading of tumorous alterations of the brain. *Neurosurg Review* 1992; 15 (4): 265-273.
9. Chang WH, Kak VK, Banerjee AK, Rajwanshi A. Stereotaxic biopsy of brain-stem tumours in children. *Childs Nervous System* 1990; 6 (7): 409-411.
10. Ellis WG, Youmans JR. Neurosurgical biopsy. In: Youmans JR editor. *Neurological Surgery*. vol. I. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Comp, 1990, 292-331.
11. Schmitt HP, Wowra B, Sturm V. Diagnostic value of the stereotactic approach to focal lesions in the deep brain of children and adolescents. *Brain and Development* 1988; 10 (5): 305-311.
12. Frank F, Fabrizi AP, Frank R et al. Stereotactic biopsy and treatment of brain stem lesions: combined study of 33 cases Bologna-Marseille. *Acta Neurochirurgica Suppl* 1998; 42: 177-181.
13. Rekate HL, Ruch T, Nulsen FE et al. Needle biopsy of tumors in the region of the third ventricle. *J Neurosurg* 1981; 54 (3): 338-341.
14. Bogousslavsky J, Léger JM, Mas JL. *Neuroroncologie*. Rueil -Malmaison: Doin Groupe Liaisons, 2001.
15. Franzini A, Allegranza A, Melcarne A et al. Serial stereotactic biopsy of brain stem expanding lesions. Considerations on 45 consecutive cases. *Acta Neurochirurgica Suppl* 1988; 42: 170-176.
16. Thomas DG, Bradford R, Gill S, Davis CH. Computer-directed stereotactic biopsy of intrinsic brain stem lesions. *Br J Neurosurg* 1988; 2 (2): 235-240.
17. Coffey RJ, Lunsford LD, Taylor FH. Survival after stereotactic biopsy of malignant gliomas. *Neurosurg* 1988; 22 (3): 465-473.
18. Coffey RJ, Lunsford LD. Factors determining survival of patients with malignant gliomas diagnosed by stereotactic biopsy. *Applied Neuro-Physiology* 1987; 50 (1-6): 183-187.
19. Decaestecker C, Camby I, Nagy N et al. Improving morphology - based malignancy grading schemes in astrocytic tumors by means of computer - assisted technicques. *Brain Pathol* 1998; 8 (1): 29-38.
20. Paulus W, Peiffer J. Intratumoral histologic heterogeneity of gliomas. A quantitative study. *Cancer* 1989; 64 (2): 442-447.

USAGE OF VENOUS GRAFTS IN AORTO-ILIAC RECONSTRUCTIVE SURGERY

R. Popa [1], Ioana Grigoraş[2], Khawaja Zaib[1], A. Raza[1], Genoveva Baroi[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
"St. Spiridon" University Hospital Iaşi
1 Department of Vascular Surgery
2 Department of Anaesthesiology

USAGE OF VENOUS GRAFTS IN AORTO-ILIAC RECONSTRUCTIVE SURGERY (Abstract): The authors present their clinical experience utilizing venous grafts (greater safenous vein and superficial femoral vein) in the aorto-femoral position. **Materials and methods**: Span of study is five years. The situations when these techniques were implemented are as follows: - (A). Infected synthetic prosthesis and (B). aorto-iliac occlusive disease in younger patients. A. In synthetic prosthetic infections there are 2 situations: 1. IMMEDIATE INFECTION. Observed in 10 cases, from which 2 cases where of severe infection and 8 cases of superficial infection - localized in the postoperative wound - Scarpa triangle region (7 cases) and left para-rectal (1 case). Superficial infections were treated successfully by daily dressings, excision of necrotic debris, antibio-therapy according to local antibiograms (only cases involving local invasion), and of course secondary wound closure at a later on date. The 2 cases of severe graft infection required harvesting of the superficial femoral vein and its usage in the aorto-femoral position. 2. LATE INFECTIONS. 3 patients were diagnosed with late infection of the synthetic prosthesis. In 2 cases, the infection was localized in the Scarpa triangle region, and the third in the abdomen (at the level of the aortic anastomosis). B. Aorto-iliac occlusive disease in younger patients - 2 cases benefited from an aorto-bifemoral bypass reconstruction using the superficial femoral vein, and 5 cases where the greater safenous vein was used in the iliac position. **Results**: Only 1 patient with severe prosthetic infection died due to multiple organ dysfunctions after the operation ; the rest survived without any major amputation. **Conclusions**: the harvesting and usage of these venous grafts is sometimes the final solution for patients with synthetic prosthesis infection. **Key words**: AORTO-ILIAC OCCLUSIVE DISEASE, AORTO-BIFEMORAL BYPASS RECONSTRUCTION, INFECTION OF SYNTETIC PROSTHESIS, AUTOLOGOUS MATERIAL

The authors present their clinical experience using venous grafts (greater safenous vein and superficial femoral vein) in the aorto-femoral position. Period of study is 5 years on a total of 126 patients.

The situations when these techniques were implemented are as follows:

- Infected synthetic prosthesis
- Aorto-iliac occlusive disease in younger patients.

A. PROSTHESIS INFECTION

Infection of the synthetic prosthesis in the aorto-iliac position is a very serious complication having a serious impact over the vital prognosis of the patient (haemorrhage, sepsis) and even vascularisation of the implicated limb.

The studies (1,2) registered a mortality and morbidity rate of 7-25% and as treatment required extraction (infected graft), along with the lengthy vascularisation procedure. It is difficult to appreciate the percentage 1-6% of graft infection due to possibility of late infection (over 10 years). Prosthesis infection in the aorto-bifemoral grafts frequently appears at the level of distal anastomosis in Scarpa triangle (3). In 1/3 of the cases prosthesis infection was localized permitting partial resection of the infected graft.

- There are several classifications (1) of postoperative graft infection .

According to the depth of infection (Szilagyi - classification (4,5,6)) applicable for postoperative wound infection (1): Grade 1 - superficial cellulites of wound , Grade 2 - infection of the subcutaneous tissue , Grade 3 - Graft infection .

- Added to these are erosions, aorto-enteric fistulas, infection of the aortic stump.

Most of the infections have frequently occurred in the first 4 months after the intervention and affect the extracavitary graft (Scarpa region).

MATERIALS AND METHODS

Period of study is 5 years during which a number of 126 patients were operated (By-pass aorto-uni (bi) femoral).

Immediate infection was diagnosed in 10 cases from which 8 cases were of superficial infection (grade 1 and grade 2 Szilagy) without involvement of the synthetic graft. Out of these, 7 cases infection was localized in the Scarpa region and one at the level of the pararectal incision for the retroperitoneal approach of the abdominal aorta.

Superficial infection was manifested by lymphorrhea, local angioedema and positive cultures.

Locally prelevated antibiograms showed presence of the following microbes: *Staphilococcus aureus* (3-30%), *Klebsiella* (1-10%), *Escherichia coli* (3-30%), *Pseudomonas aeruginosa* (1-10%), *Acinetobacter* (2-20%). Superficial infections were treated by daily dressings, necrotic debridement, specific antibiotherapy (in case of local bacterial invasion) and secondary wound closure.

2 cases presented with Szilagy classification grade 3. Both the cases benefited from complete extraction (1 case) or partial (1 case) of the infected graft and replacement with an autologous venous graft (superficial femoral vein). Late infection was diagnosed in 3 patients: In 2 cases the infection was localized in Scarpa region and in the 3rd case in the abdomen at the level of aortic anastomosis. 2 cases benefited from partial extraction of the infected graft and replacement of the excised graft with autologous material (superficial femoral vein), while in the 3rd case the infected graft was removed completely and replaced with autologous venous graft utilising both the superficial femoral veins.

Initial diagnosis of the tardive graft infection was based on clinical findings (presence of a fistulous tract, atonic wound, pulsatile pseudo-tumoral mass) to which were added paraclinical investigations (duplex scan which in one case showed presence of

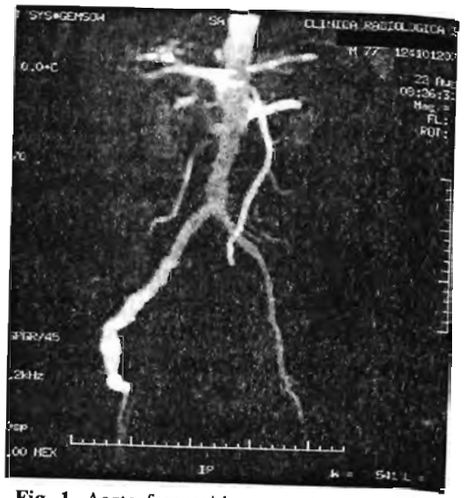


Fig. 1. Aorto-femoral by pass with superficial femoral vein (right side)

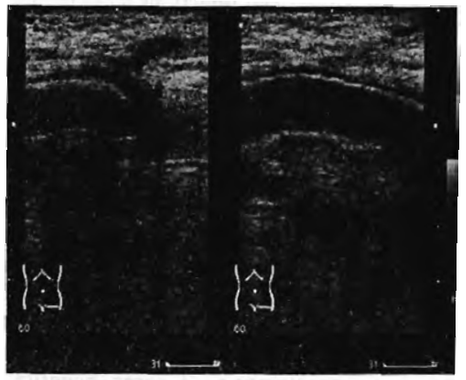


Fig. 2. Periprosthetic biofilm and fistulae from the graft to the skin

periprotetic bio film (fig. 2), blood tests, microbial cultures).

Microbes cultured in late infections were as follows: *Staphilococcus aureus* (1-33%,) *Escherichia coli*(1-33%), *Pseudomonas aeruginosa* (1-33%). For grade 3 Szilagy infections, we preferred autologous material (superficial femoral vein). Harvesting of the venous grafts constitutes an aseptic operation time: femoral vein is discovered by a longitudinal incision placed on the internal surface of the thigh over the Sartorius muscle that is retracted internally and externally during the harvestation. In cases of partial graft infection the intervention was divided in 2 aseptic and one septic time. 1st aseptic time is harvestation of the femoral vein with complete closure of the wound; 2nd aseptic time includes discovery of the proximal portion of the graft considered uninfected and therefore preservation of the proximal anastomosis which is also considered uninfected. After careful dissection of the graft, proximal anastomosis between the inversed venous graft and the uninfected portion of the synthetic graft is carried out followed by exteriorising the venous graft externally, avoiding its contamination in the Scarpa region. After drainage and closure of the retro peritoneum, we begin the 3rd stage of the intervention - the septic time. Dissection in the Scarpa triangle, relevates the receptive native arteries (common, superficial and deep femoral artery), the infected graft which is extracted and replaced with the venous graft. After completion of the anastomosis the wound is closed with aspirative drainage. In the case of total graft infection, which also presented with pseudo aneurysm of the proximal anastomosis (aortic anastomosis) the risk of intra abdominal rupture was imminent so we inserted another aorto-bifemoral graft (Dacron); a few days later the synthetic graft was replaced by autologous material (femoral veins). After harvestation of both superficial femoral veins and closure of the wound we entered the abdomen; we performed termino-terminal anastomosis between aorta and a single venous graft while the second placed as a cross over from right to left for revascularization of the left inferior limb. Postoperative treatment included specific antibiotherapy over a period of 6 weeks (treatment per os after discharge).

RESULTS

Of the 5 cases of graft infection, 4 patients survived (3 of them still, at the moment of publication). One patient died 3 months after reintervention (infection of aorto-bifemoral graft) due to septic shock and multiple organ dysfunctions.

B. USAGE OF VENOUS CONDUITS IN YOUNG PATIENTS WITH OCCLUSIVE AORTO-ILIAC DISEASE

MATERIALS AND METHODS

The next step was the usage of superficial femoral veins in the aortic position in the cases of "small aorta syndrome" or "inflammatory aorta in young patients". This technique is supported in specialized literature (5,6). We utilized this procedure in 2 cases, both with favourable evolution (fig. 3, fig. 4).

Fig. 3. Harvestation of both superficial femoral veins control of permeability and ligature of the colateral

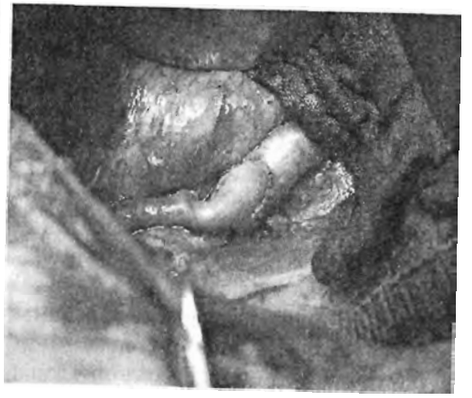


Fig. 5. Proximal anastomosis end to side between iliac artery and GSV

The next step, the internal safenous vein was utilized in the ilio-femoral position when a proper length and calibre was present. This method was used in 5 cases. In all these cases, the safenous vein had a calibre greater than 4 mm in diameter and its usage was determined by the following: pacients age under 50 years, presents important atherosclerosis at the level of iliac arteries, in one case, accidental opening of the intestinal lumen resulting in imposibility of the usage of synthetic material

In one case the safenous vein was utilized to vascularise bilateral extremities-by-pass aorto-femoral on left side followed after one year by-ilio-femoral on right side (fig .5, fig. 6).

Fig. 4. Creation of a neo-aorta with 2 femoral veins; End to side anastomosis between one femoral vein and the aorta; end to side anastomosis between the second vein and the first vein

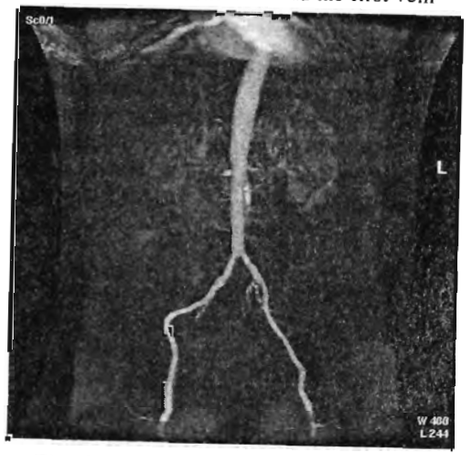


Fig. 6. Angio-RMN image; bilateral ilio-femoral by pass with great saphenous veins we see below the bifurcation of aorta the sites of proximal anastomosis

RESULTS

Results of this procedure were very good : claudication distance > 500 m, ABI >0.90. None of the operations resulted in amputations of the limb.

DISCUSSIONS

There are multiple therapeutic options in cases of aorto-femoral graft infections: simple resection of the prosthesis, which saves the life of the patient but determines acute ischemia or amputation of the affected

limb; resection of the graft associated with an extra-anatomical reconstruction simultaneously (axilo-femoral, resection of the prosthesis and in-situ graft with a new synthetic prosthesis which will surely be infected and require resection; resection of the prosthesis (complete or partial) and utilization of autologous material prelevated from the patient (superficial femoral vein, safenous vein; and finally, in developed countries, the usage of cryo preserved homografts (8,10). Favorizing factors for graft infection still remain multiple interventions, immediate or tardive, which expose the graft to possible contamination. Proper assessment of the extent of graft infection can only be appreciated intra operatively. Initial retroperitoneal approach, being at a distance from the infected area or zone, showed perfect integration of the unaffected graft in fibrous tissue, absence of oedema and absence of periprotetic biofilm. Bacteriologic examination was negative from this level. Isolation of the septic time was essential; we initially covered the infected areas with sterile drapes sutured to the skin. After which we moved on to the aseptic time. In 60% of the cases the superficial femoral vein accompanies the corresponding artery at the level of Scarpa were it unites with deep femoral vein, 9 cm from the inguinal ligament were it forms the common femoral vein; in 21 %of the cases the emergence of 2 femoral trunks from the popliteal vein which unite at the crural ligament was observed; in 13 % of the cases there were multiple veins;, in 2 % a double popliteal vein was observed which continued as a double femoral vein up to the inguinal ligament were it united (9). Preoperative Doppler examination of the femoral vein is essential. In-situ venous grafts of the superficial femoral vein are available with a length of 30-35 cm and diameters between 7-14 mm (7). Permeability of these grafts over a period of 5 years is 82 % but still the rate of major amputation is 6-10 % and postoperative mortality is 10-17 % (7) (fig. 1).

CONCLUSIONS

The treatment of prosthesis infection have a scope of: survival of the patient, eradication of infection by extraction of the prosthesis, revascularization of the limb through a singular and durable method with reduced risk of reinfection. Simple local treatments (debridation, excision, lavage, drainage), can be utilised only in situations with grade 1 and 2 Szilagy superficial infections. The rate of mortality with conservational methods remains very high, 20-45%.

The utilisation of autologous femoral vein grafts represents a favourable surgical solution, in cases with well-stabilised pre and intra operative indications. Partial prosthesis infection of the synthetic aorto-bifemoral grafts represents a clinical reality whose diagnoses require obligatory collaboration of the clinical and paraclinical examination with intraoperative exploration. The interval of time between diagnosis of infection and surgical sanction should be as small as possible in order to prevent complications derived from chronic infection. Utilisation of the internal safenous vein in the iliac position remains a solution that requires trail over time on a larger number of cases. In the earlier years of aortic surgery, total extraction of the graft, closure of the aorta and an extra anatomical reconstruction and amputation were standard, morbidity and mortality remain at unacceptably high rates and therefore new methods were implemented for limb salvage and life preservation.

Infection therapy nowadays after aorto-femoral reconstruction, is based on partial or complete excision and revascularization through an autologous graft, which replaces the synthetic graft partially or totally.

REFERENCES

1. Bandyk DF, Back MR. Infection in prosthetic vascular grafts. In: Rutherford R editor. *Vascular Surgery.* 6th ed. W.B. Saunders Comp, 2005, 875-894.
2. Clagget GP, Valentine RJ, Hagino RT. Autogenous aortoiliac -femural reconstruction from superficial - popliteal veins: feasibility and durability. *J Vasc Surg* 1997; 29 (5): 255-270.
3. Ehrenfeld WK, Wilbur BG, Olcott CN, Stoney RJ: Autogenous tissue reconstruction in the management of infected prosthetic grafts. *Surg* 1979; 22: 82-85.
4. Faries PL, LoGerfo FW, Arora S et al. A comparative study of alternative conduits for lower extremity revascularization: All-autogenous conduit versus prosthetic grafts. *J Vasc Surg* 2000; 32 (6): 208-217.
5. Goeau-Brissoniere O, Coggia M. Infectabilite des protheses arterielles.In: Kieffer E editor. *Le Remplecement Arteriel: Principes et Applications.* AERCV, 1992, 83-92.
6. Kieffer E, Bahnini A, Koskas F, Kieffer E. Traitement des fistules protheto-digestives par allografe arterielle. *J Mal Vasc* 1996; suppl., 167-170.
7. Kieffer E, Goeau-Brissoniere O, Pechere JC. Infections arterielles. In: Kieffer E editor. *Le Remplecement Arteriel: Principes et Applications.* AERCV, 1992, 151-155, 157-160.
8. Nevelsteen A, Lacroix H, Suy R. Autogenous reconstruction with the lower extremity deep veins: an alternative treatment of prosthetic infection after reconstructive surgery for aortoiliac disease. *J Vasc Surg* 1995; 22: 129-143.
9. Nevelsteen A, Suy R. Autogenous venous reconstruction in the treatment of aortobifemoral prosthetic infection. *J Cardiovasc Surg* 1988; 29: 315-320.
10. Brewster DC. Direct reconstruction for aorto-iliac occlusive disease. In: Rutherford R editor. *Vascular Surgery.* 6th ed. W.B. Saunders Comp, 2005, 1106-1107.

NOUTĂŢI

ACID ZOLEDRONIC ÎN ADMINISTRARE ANUALĂ PENTRU TRATAMENTUL OSTEOPOROZEI POSTMENOPAUZĂ

În tratamentul osteoporozei, bifosfonaţii reprezintă cea mai utilizată clasă terapeutică. S-a dovedit că alendronatul şi risedronatul inhibă resorbţia osoasă mediată de osteoclaste şi reduc riscul de fractură secundară. Pentru creşterea aderenţei la tratament, s-a testat recent un alt reprezentant al clasei, acidul zoledronic, în administrare anuală, intravenoasă. În acest studiu, au fost randomizaţi 3889 pacienţi care au primit tratament intravenos cu acid zoledronic, 5 mg, intravenos, în perfuzie de 15 minute, doză unică anuală, comparativ cu 3876 de pacienţi care au primit placebo şi urmărirea s-a făcut timp de 36 de luni. Tratamentul cu acid zoledronic a redus riscul de fractură vertebrală cu 70% pe o perioadă de 3 ani (3,3% în grupul cu acid zoledronic vs 10,9% în grupul placebo, risc relativ 0,3) şi de fractură de şold cu 41% (1,4% în grupul cu acid zoledronic, faţă de 2,5% în grupul placebo). Acidul zoledronic a determinat şi o creştere semnificativă a densităţii osoase. Efectele adverse au fost comparabile între cele 2 grupuri, cu excepţia fibrilaţiei atriale care a fost mai frecventă în grupul cu acid zoledronic (50 vs 20 pacienţi, $p < 0,001$) (Black DM et al. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. N *Engl J Med* 2007; 356 (18): 1809-1822).

Corina Dima-Cozma

TRATAMENTUL LASER ENDOVENOS ÎN INSUFICIENŢA VENEI SAFENE INTERNE

N. Constantea[1], S. Crişan[2], V. Donca[2], Elena Buzdugan[2], T. Pop[1], Daciana Chirilă[1], Corina Capâlneanu[1], F. Jianu[1], V. Dudric[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "I. Haţieganu" Cluj-Napoca
Facultatea de Medicină
1 Clinica Chirurgie V
2 Clinica Medicală V

ENDOVENOUS LASER TREATMENT (EVLT) FOR TREATMENT OF GREAT SAPHENOUS VEIN INSUFFICIENCY (Abstract): **Objective**: To assess the efficacy and rate of complications of endovenous laser treatment (EVLT) of the great saphenous vein (GSV) insufficiency. **Method**: Between august 2002 and june 2007, 341 of the lower limbs of 322 patients were treated with EVLT using a 980-nm diode laser. Duplex ultrasound and clinical examinations were performed on the day of the procedure, the next day, and 6 to 12 months after the procedure. **Results**: All procedures were technically successful, and at the 3 months follow-up the Doppler ultrasound indicated the complete obstruction in all cases. 67 of the 70 lower limbs presented a complete obstruction at the 2 year follow-up. Only in two cases (2.85%) the GSV recanalization was observed after 6 months. As side effects reversible paresthesia, transient postoperative pain and ecchymosis were observed. **Conclusion**: EVLT is a safe technique, with low incidence of recanalizations and postoperative complications. **Key words**: ENDOVENOUS, LASER, TREATMENT

Insuficienţa venoasă superficială simptomatică este o patologie frecvent întâlnită la populaţia adultă, prezentă într-o proporţie de 15% la bărbaţi şi respectiv 25% la femei (1). La pacienţii diagnosticaţi cu varice hidrostatice s-a descoperit într-o mare măsură şi prezenţa insuficienţei venoase a venei safene interne. Sechelele insuficienţei venoase netratate sunt reprezentate de dureri cronice, edem, ulceraţii şi tromboflebită. Vena safenă internă (VSI) reprezintă principala venă a sistemului venos superficial, iar refluxul VSI se asociază des cu prezenţa venelor varicoase superficiale de dimensiuni mari. Metodele tradiţionale de tratament a insuficienţei venoase şi a joncţiunii safeno-femurale (JSF) se axează pe principiul eliminării sursei de reflux împreună cu ablaţia segmentelor venoase incompetente: ligatura crosei şi strippingul VSI, a căror dezavantaje sunt în continuare reprezentate de perioada mai lungă de spitalizare şi recuperare postoperatorie, riscurile anesteziei spinale sau generale, complicaţiile chirurgicale (parestezii, sângerare, infecţie, cicatrizare vicioasă), precum şi costurile de spitalizare crescute (2,3). Având în vedere cele de mai sus, asociate cu frica de operaţie a pacienţilor a fost necesară introducerea de metode de tratament alternative, minim invazive reprezentate de scleroterapie, miniflebectomii, scleroterapia ghidată ultrasonografic şi transcateter, terapia prin radiofrecvenţă mono- şi bipolară şi tehnicile de terapie laser endovenoasă cu excelente rezultate cosmetice, tehnici pe larg acceptate azi,

care tind să înlocuiască ligatura şi strippingul venei safene interne.

Tratamentul cu laser endovenos permite repartizarea energiei laserului direct intraluminal cu deteriorarea endoteliului şi fibroza pereţilor vasului. Se presupune că distrugerea VSI prin metoda laser este rezultatul distrugerii termice a acesteia (4). Absorbţia pentru laser cu 810, 940 şi respective 980 nm are ca ţintă hematiile intravasculare. Cu toate acestea deteriorarea termică cu colabarea VSI s-a demonstrat şi la nivelul vaselor golite de sânge. În urma studiilor efectuate s-au invocat ca posibile mecanisme de acţiune ale terapiei laser lezarea termică a pereţilor vasului provocată de vaporizarea conţinutului sanguin, având consecinţă ocluzia trombotică a vasului şi/ sau contracţia fibrelor de colagen din pereţii vasculari apărută la circa 50 de grade (la 70-100 grade apare necroza) (5).

MATERIAL ŞI METODA

Din august 2002 până în iunie 2007 au fost trataţi un număr de 322 pacienţi cu insuficienţă venoasă a venei safene interne (341 VSI) cu reflux la nivelul crosei VSI. în funcţie de posibilitatea de a reveni la control pentru evaluarea clinică la intervale bine stabilite au fost selectionaţi un numar de 66 de pacienţi (70 VSI), 44 femei şi 12 bărbaţi. Toţi pacienţii au fost investigaţi prin ultrasonografie Doppler (fig. 1).

Diametrul transversal al VSI măsurată la 3 cm sub JSF a fost cuprins între 5,7 şi 22 mm, cu o medie de 11 mm. Distanţa de la punctul de intrarea la JSF a fost măsurat pentru a stabili lungimea traiectului VSI. Punctul de intrare a fost ales în funcţie de dimensiunile dilataţiilor varicoase şi prezenţa venelor perforante. Acest punct a fost în majoritatea cazurilor pe faţa medială a coapsei la nivelul genunchiului, mai rar premaleolar. în anestezie locală şi sub ghidare ecografică se patrunde în VSI prin puncţie sau printr-o incizie de 3-4 mm, în punctul stabilit. Folosind tehnica Seldinger se introduce anterograd fibra laser cu diametrul de 600 microni printr-un cateter cu rol protector. Capătul fibrei laser se poziţionează la 2 cm sub JSF. Poziţionarea corectă a fibrei este confirmată prin vizualizarea directă transcutanat a luminii roşii a fibrei laser sau ultrasonografic. Pentru a împiedica alunecarea fibrei în cateter aceasta este securizată prin folosirea steristrips. Orice alunecare accidentală a fibrei optice proximal în vena femurală comună sau distal în interiorul cateterului face imposibilă vizualizarea transcutană a luminii laser. Odată fibra plasată se administrează perivenos o soluţie anestezică. După reducerea volumului de sânge din interiorul venei prin poziţia Trendelenburg a bolnavului fi-

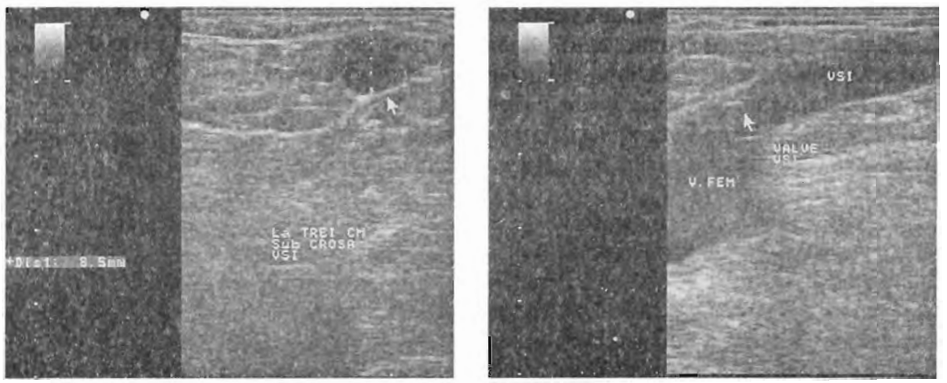


Fig. 1. Aspect ecografic preoperator

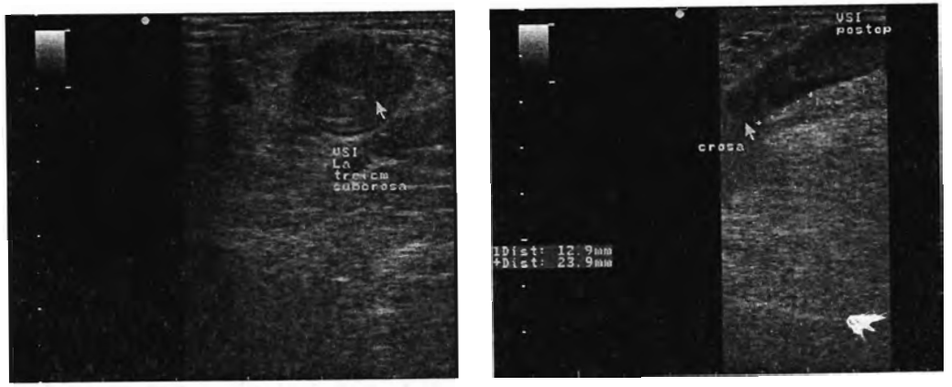


Fig. 2. Aspect ecografic postoperator

bra optică se conectează la dioda laser de 980 de nm. Energia laser este eliberată de-a lungul venei în pulsuri de 1,0 - 2,5 sec la o putere de 8 - 12 W în funcţie de diametrul VSI. Fibra laser şi cateterul sunt retrase în reprize de 3 - 5 mm până se ajunge la 2 cm faţa de punctul de intrare. După îndepărtarea fibrei laser şi a cateterului este necesară compresia digitală hemostatică.

Toate venele varicoase tributare sunt tratate prin metoda laser endovenos sau excizate prin metoda de flebectomie standard prin intermediul unor incizii mici cu ajutorul acului Varady. Imediat după intervenţia chirurgicală este aplicat un ciorap elastic clasa II (30 - 40 mmHg) care este menţinut cel puţin o săptămână şi continuu în primele 3 zile. Pacienţii se mobilizează imediat după intervenţie şi pot să-şi continue activităţile cotidiene cu excepţia eforturilor fizice intense. Pacienţii au fost evaluaţi clinic şi ecografic la 1, 7 şi 21 de zile postoperator iar apoi la 6 luni, 1 an şi 2 ani.

REZULTATE

Procedeul a fost bine tolerat de către toţi pacienţii chiar şi numai în anestezie locală. Poziţionarea corectă a fibrei optice în lumenul VSI a fost posibilă în toate cazurile. La cei mai mulţi pacienţi echimozele şi discomfortul minim de-a lungul venei tratate s-au rezolvat în 1 - 2 săptămâni. Trei pacienţi au prezentat dureri şi sensibilitate necesitând tratament analgezic (diclofenac) pentru 7 - 10 zile. Nu au existat complicaţii majore. La urmărirea postoperatorie efectuată la 1, 7 zile şi 3 luni s-a observat ocluzia completă a VSI la toţi pacienţii trataţi şi o reducere a diametrului VSI (fig. 2).

În doua cazuri (2,85%) vena safenă internă (diametru 2,2 cm) s-a recanalizat după 6 luni. într-un alt caz (1,42%) s-a evidenţiat recanalizarea proximală incompletă la 12 luni postoperator (tab. I).

DISCUŢII

Din experienţa noastră rezultatele tratamentului insuficienţei VSI cu reflux la nivelul JSF sunt impresionante. Terapia laser endovenoasă se adresează atât zonelor de reflux cât şi segmentului venos insuficient (6). Transmiterea energiei laser printr-o fibră optică flexibilă cu diametru mic (400

TABELUL I

Perioada (luni)	Rata de închidere (%)	Reducere în diametru (%)
1	70/70 (100%)	36 %
3	70/70 (100%)	56%
6	68/70 (97,14%)	76%
12	67/70 (95,71%)	88%
24	67/70 (95,71%)	96%

- 600 microni) şi posibilitatea vizualizării directe transcutanate a fibrei optice permite o manevrabilitate crescută şi asigură poziţionarea corectă a fibrei printr-o tehnică minim invazivă, ceea ce contribuie la siguranţa şi simplitatea procedurii. Această tehnică permite repartizarea energiei laser direct intraluminal cu deteriorarea endoteliului şi fibroza pereţilor venoşi (7). Printre posibilele mecanisme de acţiune ale terapiei laser face parte lezarea termică a pereţilor venoşi provocată de vaporizarea conţinutului sangvin, având drept consecinţă ocluzia trombotică a vasului şi/sau contracţia fibrelor de colagen din perete cu colabarea sau reducerea diametrului vasului (8).

în toate biopsiile efectuate din porţiunea distală a VSI recoltate prin flebectomii şi din venele varicoase tributare tratate prin EVLT nu s-au semnalat perforaţii ale peretelui venos. Acest fapt, cât şi absenţa unui efect termic semnificativ pe ţesuturile perijacente, se datorează probabil soluţiei de intumescenţă care crează un manşon protector perivenos.

Prezenţa sângelui la nivelul venei este necesară pentru distribuirea uniformă a energiei laser la nivelul peretelui venos, dar acest fapt determină formarea de bule intravascular care pot induce senzaţia de gust de fum în timpul procedurii (8).

Folosirea cârligului Varady, similar celui folosit în flebectomiile standard, pentru abordul trunchiului VSI, cât şi abordul percutan posibil la anumiţi pacienţi, oferă rezultate cosmetice deosebite (7).

În afara echimozelor şi/sau a unui discomfort minim postoperator observat la unii pacienţi nu s-au semnalat alte complicaţii majore sau minore.

Rezultatele pe termen scurt - ocluzionarea completă a VSI tratate, complicaţii nesemnificative - sunt superioare celorlalte tehnici minim invazive.

Rezultatele pe termen mediu ale pacienţilor tratati cu EVLT pot confirma superioritatea acestei promiţătoare tehnici care poate oferi o alternativă elegantă la intervenţia chirurgicală clasică (crosectomia şi strippingul venei safene interne).

CONCLUZII

Experienţa acumulată în aproape trei ani a demonstrat ca EVLT cu diodă laser de 980 nm este o metodă sigură şi eficientă în tratamentul asocierii insuficienţă - reflux proximal a venei safene interne.

Această tehnică de obstrucţie endovenoasă utilizând laserul endoluminal constituie o alternativă mai puţin invazivă comparativ cu ligatura + stripping a VSI, la fel de eficientă, rapidă, mai puţin costisitoare, cu puţine sau chiar fără sechele postoperatorii şi cu rezultate estetice net superioare.

BIBLIOGRAFIE

1. Callam MJ. Epidemiology of varicose veins. *Br J Surg* 1994 ; 81 : 167-173.
2. Rivlin S. The surgical cure of primary varicose veins. *Br J Surg* 1975 ; 62 : 913-917.
3. Conrad P. Groin-to-knee downward stripping of the long saphenous vein. *Phlebologie* 1992 ; 7 : 20-22.
4. Proebstle TM, Sandhofer M, Kargl A et al. Thermal damage of the inner vein wall during endovenous laser treatment : key role of energy absorption by intravascular blood. *Dermatol Surg* 2002 ; 28 : 596-600.
5. Bone C. Tratamiento endoluminal de las varices con laser de diodo : estudio preliminario. *Rev Patol Vasc V* 1999 ; 5 : 35-46.
6. Min RJ, Zimmet SE, Isaacs MN, Forrestal MD. Endovenous laser treatment of the incompetent greater saphenous vein. *J Vasc Interv Radiol* 2001 ; 12 : 1167-1171.

7. Chandler JG, Pichot O, Sessa C, Schuller-Petrovic S, Kabnick LS, Bergan J. Treatment of primary venous insufficiency by endovenous saphenous vein obliteration. *Vasc Surg* 2000; 34: 201-214.
8. Proebstle TM, Lehr HA, Kargl A et al. Endovenous laser treatment of the greater saphenous vein with a 940-nm diode laser: thrombotic occlusion after endoluminal thermal damage by laser-generated steam bubbles. *J Vasc Surg* 2002; 35: 729-736.

NOUTĂŢI

DEMISTIFICAREA DISMORFOLOGIEI

Într-o sinteză publicată în *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, Reardon şi Donnai prezintă elementele esenţiale în diagnosticul sindroamelor dismorfice. Recunoaşterea precoce a sindroamelor dismorfice este importantă pentru stabilirea unei conduite practice corecte. Un aspect important în dismorfologie este realizarea unei anamneze corecte şi minuţioase, pe baza căreia se poate elucida natura afecţiunii în formele paucisimptomatice. Realizarea unei anchete familiale este esenţială în dismorfologie. De exemplu, colectarea datelor anamnestice gestaţionale poate releva o anumită medicaţie cu potenţial teratogen, luată de mamă în cursul sarcinii. Pe de altă parte, analiza istoricului familial permite stabilirea tipului de transmitere genetică a afecţiunii. Examenul clinic este de maximă importanţă în dismorfologie. Totuşi, în unele situaţii, examenul clinic nu asigură stabilirea diagnosticului, dar prin publicarea observaţiilor referitoare la astfel de cazuri sunt furnizate informaţii pe baza cărora, ulterior, va fi posibilă elucidarea modelului clinic, al mecanismului patogenic şi stabilirea unor metode paraclinice de diagnostic. O altă problemă majoră în diagnosticul sindroamelor dismorfice o constituie cunoaşterea complexei terminologii medicale folosită în domeniu, astfel încât să fie evitată exprimarea ambiguă. În momentul de faţă, activitatea clinicienilor interesaţi de dismorfologie este facilitată prin consultarea unor baze de date. Unele, precum OMIM, ORPHANET sau GENETEST, pot fi consultate gratuit pe internet şi furnizează informaţii referitoare la etiologie, simptomatologia şi managementul sindroamelor dismorfice. Mult mai importante sunt bazele de date, însoţite de fotografii ale unor bolnavi, care permit diagnosticarea unor boli plecând de la o serie de simptome. Utilizarea unor astfel de baze de date de dismorfologie necesită, însă, precauţie, mai ales pentru medicii mai tineri, lipsiţi de experienţă. Concluzia finală a acestei sinteze este aceea că realizarea unui diagnostic corect în dismorfologie impune asocierea dintre: experienţa clinică, pregătire teoretică şi practică solidă, abilitate clinică, spirit de observaţie şi nu în ultimul rând un anumit grad de intuiţie fără de care nu se poate stabili diagnosticul în formele atipice de boală (Reardon W, Donnai D. Dysmorphology demystified. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007; 92: 225-229).

E.V. Gorduza

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

CORELAŢII ÎNTRE ASPECTELE ECOGRAFICE ALE HIPERPLAZIILOR ENDOMETRIALE ŞI REZULTATELE ANATOMO-PATOLOGICE

S. Abushab[1], Şt. Buţureanu[2], C. Cotuţiu[1], Corina Flaişer[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Disciplina de Histologie
2 Disciplina Obstetrică-Ginecologie III

CORRELATIONS BETWEEN THE ULTRASOUND ASPECTS OF ENDOMETRIAL HYPERPLASIAS AND THE PATHOLOGICAL EXAM (Abstract): The endometrium has a few possibilities to express the underlying pathology, even if there may be a potential dangerous one. This study is searching for a relationship between the ultrasound images of endometrial hyperplasias and the respective pathologic exams. **Material and method**: We analyzed 385 cases of endometrial hyperplasias hospitalized in the „Elena Doamna" Maternity from Iaşi, Romania during the period 2000-2005. **Results**: For all the cases included, the endometrium had a width from 2 mm to 20 mm, with a median of 9mm. The hyperplasias were: 70.18% simple hyperplasias without atypia, 18.52% complex hyperplasias without atypia, 7.1% complex hyperplasias with atypia and 4.17% secretory hyperplasias. There were no differences between the aspects or thickness of the endometrium in regard with any of the types of hyperplasias. **Conclusions**: Ultrasounds exams have a limited role to diagnose endometrial hyperplasias. They only selects patients for mandatory other investigations. **Key words**: ENDOMETRIAL HYPERPLASIA, ULTRASOUND, ENDOMETRIUM

Din punct de vedere clinic, hiperplaziile endometriale pot fi asimptomatice, se pot manifesta prin menometroragii sau pot îmbrăca simptomele leziunilor uterine asociate (fibrom uterin, endometrioză, metroanexite etc.). Din cele de mai sus se observă că nu există semne patognomonice pentru diferitele tipuri de patologie endometrială, că endometrul are relativ puţine mijloace pentru a se exprima, chiar dacă, uneori, în spate se află o patologie cu prognostic rezervat sau cu potenţial de agravare (1). În acest context, rezultatele unor examene paraclinice câştigă o pondere mult mai mare în determinarea diagnosticului pozitiv iar diagnosticul diferenţial va fi, în cazul hiperplaziilor endometriale, cel al sângerărilor de cauză uterină (2).

Examenul ecografic efectuat cu sondă abdominală sau cu sondă vaginală, poate măsura grosimea endometrului fără a aduce elemente importante privind citoarhitectonica straturilor endometriale sau date despre morfologia celulară (3). O problemă de actualitate este investigaţia endometrului la femeile care primesc tratament de substituţie hormonală (4).

Studiul îşi propune să analizeze raportul dintre imaginile ecografice obţinute la diferitele cazuri cu hiperplazie endometrială şi rezultatele anatomopatologice.

MATERIAL ŞI METODĂ

Au fost analizate 1250 cazuri internate în Maternitatea „Elena Doamna" din Iaşi în perioada 2000-2005 din care 855 au avut

un rezultat histologic de hiperplazie endometrială obţinut prin chiuretaj uterin biopsic sau după analiza piesei de histerectomie.

Toate pacientele au beneficiat de o anamneză amănunţită, un examen clinic general şi local, FCD, ecografie, histeroscopie, analize în vederea intervenţiei, sau a decelării bolilor asociate.

Examenele ecografice au fost efectuate cu două aparate, un Siemens Sonoline Prima cu sondă vaginală de 7,5 MHz şi un aparat Philips HDD 4000 cu sondă abdominală ATL 2,5-5 MHz, Doppler color şi Power Doppler.

Datele au fost obţinute din foile de observaţie şi din unele fişe concepute în acest scop şi care au fost completate odată cu efectuarea investigaţiilor.

Toate pacientele au avut un consimţământ scris pentru a putea fi evaluate şi operate. Datele obţinute au fost prelucrate statistic cu ajutorul testului Fisher pentru variabile dihotomice şi t Student pentru a se stabili gradul de semnificaţie statistică considerat la $p<0,05$.

REZULTATE

Dintre toate hiperplaziile studiate 70,18% au fost hiperplazii simple, 18,52% au fost hiperplazii complexe fără atipie, 7,1% au fost hiperplazii complexe cu atipie şi 4,17% au fost hiperplazii secretorii în urma examenului anatomo-patologic.

Ecografia abdominală a fost efectuată la 385 de cazuri din cazurile cu hiperplazie endometrială. Grosimea endometrului a fost trecută în foile de observaţie numai la 135 de cazuri şi, de obicei, atunci când era mai mare de 5 mm.

Grosimea endometrului a fost cuprinsă între 2 mm şi 20 de mm, valoarea mediană fiind 9 mm. Dintre situaţiile la care s-a măsurat acest parametru, 66,04% sunt hiperplazii simple, 11,32% sunt hiperplazii complexe, iar 22,64% sunt hiperplazii atipice. Pentru hiperplaziile simple grosimea endometrului a fost cuprinsă între 2 şi 12 mm, cu o repartiţie relativ uniformă a cazurilor. Pentru hiperplaziile complexe fără atipie, grosimea endometrului a fost între 7 şi 14 mm cu o repartiţie gaussiană. Pentru hiperplaziile compuse cu atipie grosimea endometrului a fost cuprinsă între 8 şi 20 mm. Diferenţele dintre grosimile medii ale endometrelor la diferitele forme de hiperplazie nu au avut semnificaţie statistică.

Majoritatea femeilor cu hiperplazie simplă nu au avut un endometru îngroşat evident ecografic. De fapt chiar şi la grosimi endometriale de 12 mm, este posibil ca diagnosticul să fie de hiperplazie simplă. Hiperplaziile complexe fără atipie au mai multe şanse să fie prezente la grosimi ale endometrului, în postmenopauză, peste 8 mm. În peste 67% din cazurile de hiperplazie complexă fără atipie au fost asociate imagini de fibrom uterin, confirmate ulterior histologic.

Nici în cazul hiperplaziilor atipice nu există o anumită valoare de la care suspiciunea să fie mai consistentă. În cazuistica noastră, la ecografie fibroamele au avut o pondere de 50% din totalul uterelor examinate.

Hiperplaziile secretorii nu au nici ele grosimi sau reflectivitate specifice.

Ecografia vaginală a fost efectuată la puţine cazuri (54 de cazuri). La cazurile care au beneficiat de acest examen, comparativ cu ecografia abdominală, considerăm că grosimea endometrului se poate măsura cu mai multă acurateţe. Nici în cazul ecografiei vaginale nu se poate determina tipul de hiperplazie. Prin ecografie vaginală se pot diagnostica cu mai multă precizie anomaliile de la nivelul corpului uterin şi patologia anexială asociată.

În postmenopauză, existenţa unui endometru îngroşat sau chiar a unei mucoase bine individualizate ecografic constituie un factor de risc pentru cancerul de endometru. Diferiţi autori au fixat această grosime

de la care ar trebui lărgită investigaţia la valori cuprinse între 2 şi 10 mm, mărind specificitatea şi scăzând sensibilitatea odată cu deplasarea acestei limite spre valori mai mici. Din experienţa noastră, considerăm că 5 mm ar fi o valoare rezonabilă la femeile din postmenopauză care nu au tratament hormonal substitutiv.

DISCUŢII

Ecografic, endometrul are formă triunghiulară cu vârful inferior pe secţiuni transversale. Pe secţiuni longitudinale este fuziform, mai gros şi rotunjit la fundul uterului, subţiindu-se progresiv în direcţia colului. Densitatea lui este superioară celei a miometrului din jur. Grosimea lui variază în cursul ciclului cu mari variaţii fiziologice de la o femeie la alta (0 la 12 mm) (5).

Anomaliile endometriale nu au toate o traducere ecografică caracteristică.

În cazul hiperplaziilor, dacă densitatea şi grosimea endometrului sunt variabile în timp şi de la o femeie la alta, o grosime globală peste 18 mm a endometrului la o femeie în perioada de fertilitate trebuie considerată ca anormală şi reprezintă o indicaţie de continuare a investigaţiilor. Hiperplazia endometrială are imaginea unui strat gros, bine definit şi înalt reflectiv pe întinderea întregii cavităţi, înconjurat de o zonă simetrică, slab reflectivă. După menopauză persistenţa hipertrofiei endometriale sau a unei mucoase bine individualizate ecografic constituie un factor de risc de cancer de endometru (6).

Sunt autori care consideră că există anumite tipare specifice pentru hiperplazii sau cancere endometriale – gradare sonomorfologică.

Deşi datele prezentate sunt incitante, metoda nu s-a impus având o senzitivitate de 80% şi o specificitate de 62% (7). Alte echipe nu au raportat aceleaşi rezultate.

Ecografia este superioară în diagnosticarea fibroamelor uterine şi a patologiei anexiale asociate.

Ecografia vaginală poate estima cu mai multă acurateţe grosimea endometrului dar tot nu poate determina tipul de hiperplazie. Prin ecografie vaginală se pot diagnostica cu mai multă precizie anomaliile de la nivelul corpului uterin şi patologia anexială.

În post menopauză, anomaliile endometrului apar la grosimi apreciate prin ecografie vaginală peste 4 mm. Alţi autori ridică limita la 5 mm (8). De la aceste valori trebuie lărgită aria de investigaţii, opinie la care ne raliem şi noi.

Mulţi autori recomandă urmărirea măcar cu ecografie vaginală a endometrului femeilor care folosesc tratament substitutiv hormonal în postmenopauză (9). La ora actuală se pare că ecografia vaginală este singura metodă care ar putea fi folosită ca screening pentru patologia endometrială la femeile cu risc în postmenopauză (10), la fel de sensibilă ca şi D&C (11). Oricum, iniţierea investigaţiilor asupra endometrului cu ecografie transvaginală este mai ieftină decât debutul investigaţiilor cu un chiuretaj biopsic (12).

Ecografia tridimensională cu măsurarea volumului endometrial este mai performantă decât măsurarea numai a grosimii endometriale (13).

CONCLUZII

Ecografia are un aport limitat în patologia endometrială şi chiar dacă pune în evidenţă modificări de grosime ale endometrului, nu poate preciza natura benignă sau malignă a leziunii.

Meritul ecografiei este mai ales de a selecta pacientele care trebuiesc investigate prin alte metode. În acest context ecografia vaginală câştigă un loc tot mai important, chiar ca metodă de screening a patologiei endometriale.

BIBLIOGRAFIE

1. Goldstein SR. The endometrial echo revisited: Have we created a monster? *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 1092-1096.
2. Gull B, Karlsson B, Milsom I, Granberg S. Can ultrasound replace dilation and curettage? A longitudinal evaluation of postmenopausal bleeding and transvaginal sonographic measurement of the endometrium as predictors of endometrial cancer. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 401-408.
3. Goldstein SR, Monteagudo A, Popiolek D, Mayberry P, Timor-Tritsch I. Evaluation of endometrial polyps. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 669-674.
4. Van den Bosch T, Schoubroeck D, Ameye L, De Brabanter J, Van Huffel S, Timmerman D. Ultrasound assessment of endometrial thickness and endometrial polyps in women on hormonal replacement therapy. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 1249-1253.
5. Patai K, Harkanyi Z, Jakab Z. Sonographic scan of the normal and pathological endometrium. *Acta Chirur Hungarica* 1991; 323 (2): 91-99.
6. Granberg S. Sonography of the endometrium in the post-menopausal women. *Annals of Medicine* 1994; 26 (2): 81-83.
7. Volgger B, Alge A, Windbichler G. Ultrasound morphologic evaluation of the postmenopausal endometrium. A prospective study. *Gynakol Geburtshilflishe Rundsch* 1996; 36 (1): 21-28.
8. Gupta JK, Chien PF, Voit D. Ultrasonographic endometrial thickness for diagnosing endometrial pathology in women with postmenopausal bleeding: a meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81 (9): 799-816.
9. Kiser W, Runkle G, Ellis D. Transvaginal ultrasound and surveillance on estrogen therapy. *J Am Board of Family Practice* 1993; 6 (5): 526.
10. Davidson KG, Dubinsky TJ. Ultrasonographic evaluation of the endometrium in postmenopausal vaginal bleeding. *Radiol Clin N Am* 2003; 41 (4): 769-780.
11. Karlsson B, Granberg S, Wikland M. Endovaginal scanning of the endometrium compared to cytology and histology in women with postmenopausal bleeding. *Gynecol Oncol* 1993; 50 (2): 173-178.
12. Medverd JR, Dubinsky TJ. Cost analysis model: US versus endometrial biopsy in evaluation of peri- and postmenopausal abnormal vaginal bleeding. *Radiol.* 2002; 222 (3): 619-627.
13. Stachowicz N, Czekierdowski A, Danilos J. Three dimensional sonography in the endometrial volume measurement in women with perimenopausal irregular uterine bleeding. *Ginekol Pol* 2002; 73 (11): 970-975.

NOUTĂŢI

PIERDEREA AUZULUI: EFECT SECUNDAR AL MEDICAŢIEI DISFUNCŢIILOR ERECTILE

În luna octombrie FDA (US Food and Drug Administration) a adăugat pierderea auzului pe lista efectelor secundare ale inhibitorilor fosfodiesterazei de tip 5 (PDE 5). Decizia a fost bazată pe 29 de cazuri de pierdere a auzului la pacienţi ce au primit timp îndelungat sildenafil (Viagra, Pfizer, Inc), tadalafil (Cialis, Lilly ICOS, LLC), sau vardenafil (Levitra, Bayer Pharmaceuticals Corp). Acelaşi efect secundar a mai fost constatat şi la pacienţi cu hipertensiune pulmonară ce au primit tratament cu sildenafil (Revatio, Pfizer, Inc). Pierderea auzului a fost unilaterală, asociată cu tinitus, vertij, ameţeli. În 33% din cazuri a fost de tip temporal (http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2007/NEW01730.html).

B. Gurzu

TUMORILE MALIGNE MEZOTELIALE PERITONEALE EVOLUŢIE, TRATAMENT, PROGNOSTIC

V. Scripcariu[1], Elena Dajbog[1], I. Radu[1], D. Ferariu[2], Adriana Pricop[1,3], M. Grigoraş[3], Cr. Dragomir[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica a III-a Chirurgicală şi Centrul de Cercetare în Chirurgia Oncologică şi Training în Chirurgie Generală
3 Clinica Radiologică
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2 Laboratorul de Anatomie patologică

MALIGNANT PERITONEAL MESOTHELIOMA TUMOURS. EVOLUTION, TREATMENT, PROGNOSIS (Abstract): Malignant mesothelioma of the peritoneum is a rare neoplasm with a rapidly fatal course. The median survival range is from 5 to 12 months in untreated cases with little improvement seen in patients receiving multimodality therapy. Although most cases occur in the fifth and sixth decades, peritoneal mesothelioma can be seen in any age group. Approximately 30% of all mesotheliomas arise solely from the peritoneum. Asbestos exposure, primarily of the crocidolite variety, has been implicated in the pathogenesis of this malignancy, as was established in South Africa in the 1960s. Half of reported cases have a history of asbestos exposure. The diagnosis of peritoneal mesothelioma is often delayed, in part because of the usually long latent period (peaking at 40-45 years from the time of initial exposure to asbestos) and because the common presenting symptoms of weight loss, usually with a full abdomen, malaise, and abdominal discomfort, are mild and nonspecific. This paper aim is to present a case report regarding a patient diagnosed with malignant peritoneal mesothelioma with an unpredictable evolution. **Key words**: MALIGNANT MESOTHELIOMA, PERITONEUM, ASBESTOSIS

Mezoteliomul malign peritoneal, singura tumoră peritoneală primară, este considerat de literatura internaţională ca fiind o tumoră agresivă cu prognostic nefast. Studii multicentrice au relevat că în cazul mezoteliomului pleural şi peritoneal singurul factor etiologic cert incriminat este reprezentat de azbest (1,2,3,4).

PREZENTAREA CAZULUI

În ultimii 3 ani în Clinica III Chirurgie, a Spitalului „Sf. Spiridon" Iaşi au fost diagnosticate două cazuri de mezoteliom malign peritoneal. În fiecare dintre cazuri s-a practicat ablaţia tumorii abdominale pacienţii fiind îndreptaţi către tratamentul oncologic adjuvant. Dintre aceşti pacienţi într-un singur caz pacientul s-a prezentat la control postoperator fiind evaluat în dinamică 3 ani. Evoluţia acestuia din urmă a fost favorabilă pentru o perioadă de 1,6 ani pacientul urmând un tratament multimodal. Astfel, pacientul se prezintă pentru scădere în greutate de aproximativ 10 kg în decursul unui an, subfebrilitate, transpiraţii nocturne, fatigabilitate intensă. Examenele paraclinice de laborator relevă o uşoară anemie (Hb - 11,40 g/dl), trombocitoză, VSH acce-

lerat (84 mm/1 h), electroforeză cu valori uşor crescute peste limita superioară.

Ecografia abdominală evidenţiază splenomegalie neomogenă cu noduli izo- şi hipoecogeni, pancreas normal, hepatomegalie gradul I, structură omogenă, masă tumorală voluminoasă localizată în abdomenul superior aflată în contact cu lobul hepatic stâng, diafragmul stâng şi splina, bogat vascularizată cu multiple zone chistice în interior şi absenţa ascitei. Tomografia computerizată relevă o formaţiune expansivă solidă cu următoarele caracteristici: localizată în hipocondrul stâng, supramezocolic cu dimensiuni de 21/13,5/13 cm cu zone de necroză chistică, situată în mica şi marea cavitate peritoneală cu limita superioară la nivelul unui plan care trece prin diafragm, contur boselat, structură neomogenă, limită netă de separaţie cu lobul stâng hepatic şi coada pancreasului, invadează polul superior al splinei, varicozităţi în hilul splenic, adenopatie interaortico-cavă cu diametru de 1,3 cm, hepatomegalie dreaptă omogenă, fără leziuni focale. Endoscopia digestivă superioară evidenţiază absenţa varicelor esofagiene, pliuri gastrice hipertrofiate, D1 şi D2 fără modificări.

TRATAMENT

S-a intervenit chirurgical pentru suspiciunea de proces tumoral proliferativ cu localizare în polul superior al splinei. Intraoperator se evidenţiază o formaţiune tumorală voluminoasă cu dezvoltare în mica şi marea cavitate peritoneală extrem de friabilă, foarte bine vascularizată care pare a avea punct de plecare de la nivelul splinei aderentă la faţa inferioară a cupolei diafragmatice stângi, şi la nivelul 1/3 mijlocii a marii curburi gastrice fără însă a penetra peretele gastric. Explorarea splinei relevă, o splină patologică, infiltrată tumoral. Examenul histopatologic extemporaneu nu a fost concludent pentru evidenţierea tipului tumorii. S-a practicat ablaţia tumorii şi splenectomie.

La nivelul polul superior al splinei s-a evidenţiat o impresiune circulară bine delimitată cu diametru de aproximativ 5 cm de la nivelul căreia tumora s-a enucleat în întregime. Evoluţia postoperatorie a fost favorabilă pacientul fiind externat după 10 zile de la intervenţia chirurgicală. Postoperator pacientul este supus terapiei adjuvante urmând a fi reevaluat la sfârşitul şedinţelor de chimioterapie.

Examenul histopatologic al tumorii a evidenţiat macroscopic - formaţiune tumorală cu dimensiuni de 20/17/8 cm, cu suprafaţă boselată, cu capsulă fină şi vascularizaţie proieminentă, pe secţiune consistenţa relativ scăzută, culoare variabilă alb-gălbuie cu zone violacee iar microscopic - proliferare tumorala malignă, relativ monomorfă, cu frecvente mitoze, cu arhitectură cordonală, tubulară, papilară sau pseudoalveolară, în unele zone celula tumorală prezintă vacuolizare citoplasmatică, frecvente arii de necroză

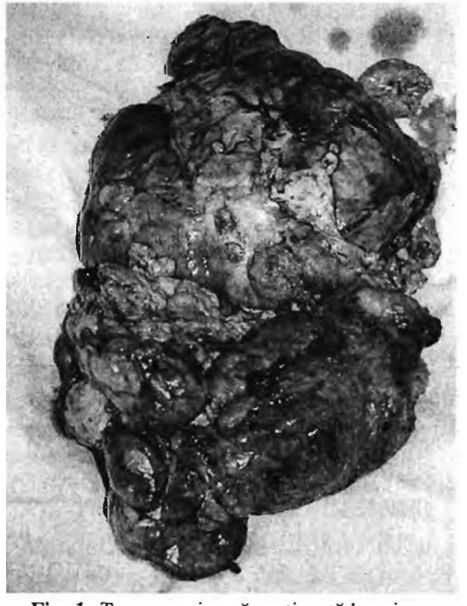


Fig. 1. Tumora primară, extirpată la prima intervenţie chirurgicală

Examenul histologic al splinei a evidenţiat macroscopic splină cu dimensiuni de 14/8/4,5 cm ce prezintă la nivelul polului superior o formaţiune tumorală nodulară, cu axul mare de 6,5 cm ce face corp comun cu tumora de la nivelul hilului splenic cu aspecte macroscopice similare, microscopic fragmente splenice cu infiltrare tumorală.

Aspectele tumorale evidenţiate histopatologic sugerează diagnosticul de mezoteliom malign peritoneal epitelial monofazic difuz. Pentru confirmare şi diferenţiere s-a efectuat evaluarea imunohistochimică a tumorii, evidenţiindu-se prezenţa difuz în tumoră de MEZOTELIN, CALRETIN şi VIMENTIN (markeri de certitudine în diagnosticul de mezoteliom malign). Tumora a testat pozitiv pentru KL1, CITOKERATINĂ 7, CD 10 şi negativ pentru alfa feto-proteină şi antigen carcino-embrionar, absenţa Bcl2 din structura tumori sugerând un prognostic favorabil. Examenul imunohistochimic confirmă diagnosticul histopatologic.

Examenul anatomo-patologic al piesei de exereză chirurgicală relevă un stadiu III, fiind prezentă invazia diafragmului, splinei şi marii curburi gastrice.

Chimioterapia urmată de pacient este reprezentată de administrarea de Cisplatin 100 mg/m^2 administrat intravenos şi repetat în ziua 22, 5 cure. Deşi există numeroase studii clinice pentru o varietate crescută de agenţi chimioterapici propuşi pentru a fi utilizaţi în terapia mezoteliomului malign peritoneal datele nu susţin nici un candidat ca reprezentând standard al terapiei.

Pacientul a fost inclus într-un program de follow-up dinamic fiind examinat clinic şi ecografic la fiecare 6 luni. După perioada de 1, 6 ani pacientul prezenta un răspuns favorabil la tratamentul combinat chirurgical şi chimioterapic, recidiva tumorală fiind absentă. După 24 de luni pacientul se prezintă pentru dureri abdominale difuze situate în etajul abdominal superior, localizate mai ales în hipocondrul stâng. Examenul clinic relevă scădere ponderală şi inapetenţă care nu sunt în conexiune directă cu terapia adjuvantă. Bio-umoral se evidenţiază prezenţa unu VSH accelerat, leucocitoză moderată şi anemie. Evaluat imagistic, ecografia transabdominală evidenţiază trei imagini hipoecogene de consistenţă chistică, cu dimensiune maximă de 4/5 cm situate la nivelul feţei inferioare a cupolei diafragmatice stângi la nivelul regiunii de unde tumora fusese enucleată anterior.

Se intervine chirurgical, intraoperator observându-se recidivă tumorală importantă cu topografie asemănătoare cu regiunile invadate tumoral anterior. Astfel, se constată prezenţa unor formaţiuni tumorale de acelaşi aspect macroscopic ca cea extirpată primar, localizate diafragmatic stâng şi la nivelul marii curburi gastrice. Se excizează ţesutul tumoral, evoluţia postoperatorie este favorabilă pacientul fiind internat ulterior în clinica de oncologie pentru tratament adjuvant. Examenul anatomo-patologic al pieselor de excizie chirurgicală, de

Fig. 2. Recidiva tumorală, extirpată la a 2-a intervenţie chirurgicală

recidivă relevă un aspect micro şi macroscopic identic cu cel diagnosticat anterior.

Pacientul urmează după trei săptămâni postoperator tratament în 5 cure de Cisplatin 100 mg/m^2 administrat intravenos şi repetat în ziua 22 (5,6).

Deşi iniţial evoluţia este favorabilă pacientul se prezintă după 3 luni pentru aceeaşi simptomatologie examenul ecografic transabdominal şi CT abdominal şi toracic relevă recidivă tumorală la nivel diafragmatic cu invazie transdiafragmatică. Statusul biologic al pacientului contraindică o abordare chirurgicală a recidivei tumorale pacientul fiind direcţionat către tratament oncologic paleativ.

DISCUŢII

Fibrele de azbest amfibole sunt de trei tipuri (crocidolite, amosite şi tremolite) cele descoperite la nivel peritoneal fiind cele amosite, la nivel pleural evidenţiindu-se prezenţa tuturor tipurilor de fibre, fapt ce pune în discuţie preexistenţa unui mezoteliom pleural de la nivelul căruia ar putea migra pe cale limfatică constituienţi fibrilari primari până în peritoneu. Datorită riscului pe care îl reprezintă expunerea la azbest se discută despre "para occupational exposure" (9,10).

Necunoscut anterior diagnosticului anatomo-patologic al piesei de exereză chirurgicală pacientul relatează utilizarea constantă în urmă cu aproximativ 35 ani a fibrelor de azbest ca material izolator al firelor electrice, meseria acestuia, electrician, implicând acest risc. Particularităţile cazului se evidenţiază odată cu analiza morfopatologică şi imunohistochimică a pieselor extirpate. În primul rând trebuie menţionată raritatea histologică a tumorii, cea de mezoteliom peritoneal malign epitelial monofazic difuz şi faptul că încadrează tumora între neoplasmele peritoneale cu agresivitate medie cu prognostic relativ bun. Ceea ce atrage atenţia este mărimea tumorii localizare cât şi dispoziţia tumorii, atât în mica cât şi în marea cavitate peritoneală (7,8).

Ceea ce merită remarcat este evoluţia favorabilă a pacientului într-o perioada de 18 luni fără semne de recidivă tumorală datorită terapiei multimodale. Evoluţia ulterioară confirmă rezultatele studiilor internaţionale, agresivitatea crescută a tumorii, pacientul având un prognostic nefast (11).

CONCLUZII

Datorită faptului că mezoteliomul malign peritoneal este dificil de diagnosticat şi tratat centre internaţionale de cercetare în domeniul cancerologiei conduc trialuri clinice pentru a standardize terapia multimodală a acestei neoplazii. Unul dintre aceste trialuri utilizează terapia fotodinamică intraoperatorie. În acest trial au fost incluşi nouă pacienţi, dintre aceştia doar doi înregistrând regresie a neoplaziei, restul decedând (12). Deşi rata de supravieţuire este scăzută ar putea reprezenta pentru viitor una dintre verigile tratamentului multimodal (13,14).

Multe dintre proiectele de cercetare în ceea ce priveşte terapia mezoteliomului malign peritoneal se focalizează asupra modificărilor ADN-ului uman provocate de către azbest celulelor mezoteliale. Studii recente au ridicat suspiciunea că infecţia cu virusul simian 40 (SV40) ar putea creşte riscul unei persoane de a dezvolta mezoteliom. Se cunoaşte faptul că unele dintre dozele de vaccin anti polio fabricate între 1955 şi 1963 au fost contaminate SV40. S-a observant că infecţia unor animale de laborator cu SV40 creşte potenţialul neoplazic al fibrelor de azbest asupra celulelor mezoteliale. S-au analizat specimene tisulare biopsiate de la pacienţi diagnosticaţi cu mezoteliom peritoneal, acestea testând pozitiv pentru prezenţa ADN-ul SV40. Acest tip de ADN SV40 a fost izolat şi din ţesuri umane sănătoase. Deşi studii multicentrice

nu au arătat un risc crescut de a dezvolta neoplazii pentru persoanele care au primit la vârsta copilăriei vaccin contaminat, descoperirea acestui virus la persoanele cu mezoteliom rămâne un element etiologic neelucidat (15,16).

Tumorile maligne primare ale peritoneului pun probleme de diagnostic clinic paraclinic şi histologic datorită rarităţii lor şi evoluţiei imprevizibile. Factorii prognostici sunt reprezentaţi de volumul şi tipul celular al tumorii.

Chirurgia reprezintă singurul tratament curativ, importante fiind însă diferite regimuri de chimioterapie care pot prelungi supravieţuirea până la 54 de luni.

BIBLIOGRAFIE

1. Loggie BW, Fleming RA, McQuellon RP, Russell GB, Geisinger KR, Levine EA. Prospective trial for the treatment of malignant peritoneal mesothelioma. *Am Surg* 2001 ; 67 : 999-1003.
2. Tandar A, Abraham G, Gurka J, Wendel M, Stolbach L. Recurrent peritoneal mesothelioma with long-delayed recurrence. *J Clin Gastroenterol* 2001 ; 33 : 247-250.
3. Raptopoulos V. Peritoneal mesothelioma. *Crit Rev Diagn Imaging* 1985 ; 24 : 293-328.
4. Wagner JC, Sleggs CA, Marchand P. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province (South Africa). *Br J Ind Med* 1960 ; 17 : 260.
5. Sugarbaker PH, Acherman YI, Gonzalez-Moreno S et al. Diagnosis and treatment of peritoneal mesothelioma : the Washington Cancer Institute experience. *Semin Oncol* 2002 ; 29 : 51-61.
6. Hamrick-Turner JE, Chiechi MV, Abbitt PL, Ros PR. Neoplastic and inflammatory processes of the peritoneum, omentum, and mesentery : diagnosis with CT. *RadioGraphics* 1992 ; 12 : 1051-1068.
7. Attanoos RL, Webb R, Dojcinov SD, Gibbs AR. Malignant epithelioid mesothelioma : antimesothelial marker expression correlates with histological pattern. *Histopathology* 2001 ; 39 : 584-588.
8. Reuter K, Raptopoulos V, Reale F et al. Diagnosis of peritoneal mesothelioma : computed tomography, sonography, and fine-needle aspiration biopsy. *AJR Am J Roentgenol* 1983 ; 140 : 1189- 1194.
9. Ordonez NG. Role of immunohistochemistry in distinguishing epithelial peritoneal mesotheliomas from peritoneal and ovarian serous carcinomas. *Am J Surg Pathol* 1998 ; 22 : 1203-1214.
10. Jacquet P, Jelinek JS, Chang D, Koslowe P, Sugarbaker PH. Abdominal computed tomographic scan in the selection of patients with mucinous peritoneal carcinomatosis for cytoreductive surgery. *J Am Coll Surg* 1995 ; 81 : 530-538.
11. Scripcariu V, Dajbog E, Lefter L, Pricop A. Mezoteliomul malign peritoneal. *Chirurgia* 2006 ; 101 (6) : 641-646.
12. *** American Joint Committee on Cancer. Lung. *AJCC Cancer Staging Manual*. 5th ed. Philadelphia : Lippincott-Raven, 1997, 127-133.
13. Antman H, Pass HI, Schiff PB. Benign and malignant mesothelioma. In : DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA editors. *Cancer : Principles and Practice of Oncology*. Philadelphia : Lippincott-Raven, 1997, 1853-1878.
14. Chahinian AP, Pass HI. Malignant mesothelioma In : Bast RC, Kufe DW, Pollock RE, Weischselbaum RR, Holland JF, Frei E editors. *Cancer Medicine*. Hamilton, Ontario : BC Decker Inc., 2000, 1293-1312
15. *** PDQ database. Malignant mesothelioma. Bethesda, Md : National Cancer Institute ; 2001. Available at cancernet.nci.nih.gov/Cancer_Types/Malignant_Mesothelioma.shtml
16. Strickler HD, Rosenberg PS, Devesa SS, Hertel J, Fraumeni JF, Goedert JJ. Contamination of poliovirus vaccines with simian virus 40 (1955-1963) and subsequent cancer rates. *JAMA* 1998 ; 279 : 292-295.

DISECŢIE ACUTĂ DE AORTĂ POSTCEZARIANĂ LA O LEHUZĂ CU SINDROM MARFAN. PREZENTARE DE CAZ

M. Onofriescu[1], Maria Gavriluţ[2], G.Tinică[3], V. Diaconescu[3], Monica Holicov[1], E. Radu[1], Marie-Jeanne Aldea[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica I Obstetrică Ginecologie Iaşi
3 Clinica de Chirurgie Cardio-vasculară
Maternitatea Cuza-Vodă Iaşi
2 Secţia Terapie Intensivă

POSTCESARIAN ACUTE AORTIC DISSECTION IN A MARFAN SYNDROME PATIENT (Abstract): Marfan syndrome is an uncommon condition in pregnancy. We present the case of 37 years old gravida 1, para 1 with Marfan syndrome. She delivered at term by cesarean section, a healthy male infant weighing 3500 grams with Apgar's of 9. During the postoperative period she developed aortic dissection and was referred to the Cardiovascular Surgery Department. We described such a case and the difficult decissions that we faced. **Key words**: MARFAN SYNDROME, PREGNANCY, AORTIC DISSECTION

Sindromul Marfan este o afecţiune a ţesutului conjunctiv cu transmitere autosomal dominantă şi penetranţă completă. Cauza o constituie o mutaţie la nivelul unei gene situată pe braţul lung al cromozomului 15 care codifică fibrilina, o glicoproteină care intră în structura elastinei (1).

În 15-20% din cazuri mutaţia apare spontan, la persoane fără antecedente heredocolaterale (2).

Prevalenţa variază de la 1 la 3-5000, în Statele Unite, până la 1 la 16-25000 după alte studii. Nu există diferenţe între sexe, în funcţie de rasă sau de zona geografică.

Diagnosticul se bazează pe datele clinice, având în vedere că tehnicile de analiză moleculară nu sunt întotdeauna accesibile, pe de o parte, iar pe de alta nu toate mutaţiile la nivelul genei respective se asociază cu sindromul Marfan. Astfel s-au stabilit criteriile Ghent, care sunt clasificate în majore şi minore, dar care nu exclud datele anamnestice sau cele obţinute prin analiză moleculară.

Mortalitatea maternă este de 1% în special prin apariţia disecţiei acute de aortă (3).

CAZ CLINIC

I G, I P gravida L.E. în vârstă de 37 de ani, căsătorită, pensionată pe caz de boală, cu domiciliul în mediul rural, se prezintă pentru contracţii uterine dureroase nesistematizate apărute în contextul unei sarcini de 37 de săptămâni.

Pacienta a fost diagnosticată cu sindrom Marfan la vârsta de 16 ani; luxaţie de cristalin bilaterală, la ochiul stâng operată la vârsta de 25 de ani, la ochiul drept - glaucom.

Antecedentele heredo-colaterale: nesemnificative.

Nedispensarizată pe parcursul sarcinii, nu a fost evaluată din punct de vedere cardiologic preconcepţional sau în cursul sarcinii. Se prezintă pentru contracţii uterine

dureroase, nesistematizate cu debut în urmă cu cîteva ore.

Examenul clinic pe aparate şi sisteme efectuat la internare evidenţiază talie = 183 cm, G = 74 kg, TA = 100/70 mmHg, puls = 74 /min, cu semne clinice sugestive pentru sindromul Marfan: dolicocefalie, dolicostenomelie, arahnodactilie. Stetacustic pulmonar se constată murmur vezicular diminuat bilateral, pacienta fiind fumătoare, iar stetacustic cardiac zgomote aritmice. Examenul EKG evidenţiază extrasistole ventriculare polimorfe. Analizele hematologice au avut valori normale. Ecografia abdominală a evidenţiat dezvoltarea normală a fătului, corespunzătoare cu vârsta cronologică a sarcinii.

Pe durata spitalizării, starea fătului a fost monitorizată prin examen ecografic, test non stress iar mama a fost supravegheată atent din punct de vedere cardiologic prin ecocardiografie transtoracică şi transesofagiană; diametrul aortei de 45 mm. După 10 zile de la internare, datorită declanşării spontane a travaliului, se decide terminarea naşterii prin operaţie cezariană. Naşte un nou născut viu, sex masculin, G = 3500 grame, Apgar 9.

Postoperator, la aproximativ 1 oră, a prezentat durere interscapulară intensă şi diferenţă de tensiune arterială la membrele superioare, ceea ce a ridicat suspiciunea de disecţie de aortă. Transferată în Clinica de Chirurgie Cardiovasculară a Centrului de Cardiologie Iaşi, explorarea ecocardiografică a confirmat diagnosticul.

Ecocadiografia a evidenţiat insuficienţă aortică grad III, bulb aortic 47 mm, valvă aortică bicuspidă cu regurgitare centrală grad III prin mecanism mixt - bicuspidie + fald de disecţie care porneşte de la 1,4 cm de cuspa posterioară. Aorta ascendentă dilatată, cu fald de disecţie ce interesează întreaga aortă de la cuspa posterioară până la nivelul aortei abdominale, mobil fără porţi de intrare vizibile la examenul Doppler color. Restul valvelor normale. Ventricul stâng uşor dilatat cu kinetică globală şi regională normală.

La cateterismul cardiac se evidenţiază dublu contur care se extinde pe toată lungimea aortei, imediat de deasupra valvei aortice până la nivelul arterei iliace comune drepte, implicând originea trunchiului brahio-cefalic. Insuficienţă aortică grad III. Artere coronare permeabile, cu origine în lumen real.

Statusul postoperaţie cezariană, modificările structurale ale fibrelor de rezistenţă şi la nivel uterin care pot afecta capacitatea de contracţie uterină, anticoagularea intraoperatorie pentru tratarea disecţiei de aortă, ne-au determinat să susţinem efectuarea ca prim timp operator a histerectomiei totale interanexiale. Ulterior echipa de chirurgie cardiacă a realizat rezecţia de aortă ascendentă cu eliminarea porţii de intrare. Valvuloplastie aortică prin suspendarea comisurilor dependente de cuspa coronară dreaptă. Alipirea cilindrilor aortici cu Bioglue şi ranforsare cu atele de teflon. Restabilirea fluxului aortic prin interpoziţie aorto-aortică de proteză vasculară nr. 30.

Din ziua 2 postoperator a primit bromocriptină pentru ablactare.

Din ziua 5 postoperator a fost transferată din secţia de terapie intensivă în secţia de chirurgie cardio-vasculară de unde a fost externată la 10 zile

DISCUŢII

Sindromul Marfan este o boală a ţesutului conjunctiv care afectează toate organele incluzând scheletul, plămânii, ochii şi vasele sanguine. Diagnosticul se bazează pe datele clinice, având în vedere că tehnicile de analiză moleculară nu sunt întotdeauna accesibile, pe de o parte, iar pe de alta nu toate mutaţiile la nivelul genei respective se asociază cu sindromul Marfan. Astfel s-au stabilit criteriile Ghent, care sunt clasificate în majore şi minore, dar

care nu exclud datele anamnestice sau cele obţinute prin analiză moleculară.

Asocierea cu sarcina implică probleme suplimentare: disecţia acută de aortă şi riscul de 50% de transmitere a bolii la produsul de concepţie.

În cursul sarcinii apare o solicitare vasculară suplimentară datorită creşterii nivelelor circulante de estrogeni, a debitului cardiac şi a volumului circulant. Disecţia acută de aortă are o incidenţă crescută în ultimul trimestru de sarcină, dar se poate întâlni în orice moment pe parcursul sarcinii, travaliului sau lehuziei (4).

Un aspect documentat în literatură susţine prezenţa fenomenului degenerativ extins la zona medială aortică în perioada sarcinii. Degradarea fibrelor de colagen şi a celor elastice joacă un rol important în patogeneza disecţiei. Acest fenomen este legat de activitatea diferitelor metaloproteinaze la nivelul matrix-ului, prin care aorta suferă un proces de remodelare. Hiperactivitatea acestor enzime sau modificarea chiar minoră de ţesut conjunctiv pot potenţa producerea disecţie de aortă (5).

Manifestările cardiovasculare includ insuficienţa aortică, insuficienţa mitrală, necroza mediei, ce induce anevrism aortic în lungul rădăcinii aortice sau aortei descendente.

Dilataţia rădăcinii aortei poate fi considerată un factor de risc, dar disecţia poate apare şi în absenţa acesteia (1). Toate pacientele cu sindrom Marfan trebuie supuse unei evaluări cardiovasculare riguroase, mai ales cele care doresc o sarcină. La pacientele cu dilataţie a aortei ascendente peste 40 mm se recomandă naşterea prin operaţie cezariană. Pentru a preveni hemoragia indusă de heparină administrată pe perioada intervenţiei chirurgicale de corectare a disecţiei de aortă, histerectomia simultană este opţiunea cea mai bună (6).

S-a demonstrat că dimensiunea aortei în momentul preconcepţional reprezintă un important factor de predicţie pentru apariţia disecţiei. Se consideră că femeile cu sindrom Marfan la care afectarea cardiovasculară este minimă sau absentă la momentul concepţiei au un prognostic bun în ceea ce priveşte posibilitatea de a duce sarcina la termen. Datele din literatură arată că majoritatea deceselor materne apar în cazurile cu sindrom Marfan la care afectarea cardiovasculară este preexistentă sarcinii.

Teama de sângerare postoperatorie la această pacinetă care a suferit o operaţie cezariană şi apoi la 8 ore se reintervine şi se practică histerectomie totală interanexială, apoi corecţia disecţiei de aortă, ne-a determinat să utilizăm rFVIIa. Am utilizat o doză unică conform experinţei prezentate în literatură în 2004 de 30-50 μg/kg (7).

Deşi după circulaţie extracorporeală, activitatea plachetară este crescută ca şi factorul tisular, cu riscul teoretic de tromboză extinsă secundar administrării de rFVIIa, prezenţa crescută şi de inhibitor al căii factorului tisular eliberat de endoteliu, antagonizează complexul sistemic factor tisular/FVIIa, protejând de coagulare intravasculară diseminată (8).

Diametrul aortei peste 40 mm sau prezenţa complicaţiilor cardiovasculare la pacientele cu prolaps de valvă mitrală reprezintă o contraindicaţie a sarcinii. Afecţiunile cardiovasculare sunt responsabile în proporţie de 90% de mortalitatea în sindromul Marfan, iar în momentul în care aceste complicaţii sunt prezente speranţa de viaţă scade dramatic. Se recomandă femeilor cu sindrom Marfan şi fără afectare cardiacă obţinerea unei sarcini până la 30 de ani.

O atenţie deosebită trebuie acordată hipertensiunii arteriale pe parcursul sarcinii şi din acest punct de vedere â blocantele sunt tratamentul de electie, iar în cazurile cu dilatare a aortei se recomandă administrarea profilactică a acestora din a doua jumătate a sarcinii (9).

În cazul asocierii cu sarcina sindromul Marfan este considerat responsabil şi pentru incompetenţa cervicală, anomaliile placentare şi hemoragiile postpartum. S-a constatat o incidenţă crescută a avortului spontan, a rupturii premature a membranelor şi a naşterii premature (10).

În cazurile cu un diametru al aortei peste 40 mm şi cu un grad important de afectare a acesteia, operaţia cezariană este metoda de electie pentru terminarea naşterii. În restul cazurilor naşterea poate decurge pe cale vaginală cu anestezie peridurală, pentru a preveni episoadele de hipertensiune arterială tranzitorie datorate anxietăţii şi durerii din cursul contracţiilor uterine. Trebuie evitat travaliul prelungit, în acest sens administrarea oxitocinei şi folosirea forcepsului fiind recomandate, în schimb ergometrina este contraindicată. Înaintea efectuării anesteziei peridurale trebuie eliminată posibilitatea existenţei ectaziei durale care ar duce la scăderea eficienţei anesteziculuì. Este discutabilă efectuarea profilaxiei endocarditei bacteriene la cazurile cu naşteri naturale necomplicate, deoarece în aceste situaţii incidenţa bacteriemiei tranzitorii este foarte scăzută: 0-5%. Unii autori o recomandă pentru pacientele cu prolaps de valvă mitrală complicat cu insuficienţă mitrală.

Diagnosticul sindromului Marfan la nou născuţi este foarte dificil, în prezent neexistând criterii standardizate de diagnostic şi aceasta în principal datorită faptului că multe din afecţiunile asociate apar mai târziu, pe parcursul vieţii. Este nevoie de o dispensarizare atentă de către medicul pediatru şi consultaţii de specialitate oftalmologice şi cardiologice. Din acest punct de vedere, nici la cazul prezentat nu s-a putut stabili dacă copilul a fost afectat sau nu. Prognosticul copilului pe termen lung depinde în mare măsură de calitatea dispensarizarii şi de confirmarea cât mai precoce a prezenţei sau absenţei sindromului Marfan.

Prognosticul matern pe termen lung este nefavorabil, datorită afectării cardiovasculare, iar riscul de recurenţă a disecţiei de aortă este mult mai mare la pacientele cu sindrom Marfan decât în cazurile cu altă etiologie a disecţiei de aortă (11).

Alţi factori de risc a căror implicare în reapariţia disecţiei de aortă a fost confirmată sunt hipertensiunea arterială şi fumatul.

Asocierea sindromului Marfan cu sarcina este rară şi doar obstetricienii care lucrează în zone cu cazuri familiale de sindrom Marfan au experienţă în monitorizarea acestor cazuri. Tratamentele medicale şi chirurgicale moderne au permis creşterea longevităţii dar şi a calităţii vieţii la aceste paciente. Din aceste motive există posibilitatea să crească incidenţa sarcinilor constatate la paciente cu sindrom Marfan. Naşterea trebuie să aibă loc în centre obstetricale terţiare aflate în apropierea unor servicii chirurgicale cardiovasculare adecvate.

BIBLIOGRAFIE

1. Robinson PN, Arteaga-Solis E, Baldock C et. al. The molecular genetics of Marfan syndrome and related disorders. *J Med Genet* 2006; 43 (10): 769-787.
2. De Paepe A, Devereux RB, Dietz HC, Hennekam RC, Pyeritz RE. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. *Am J Med Genet* 1996; 62 (4): 417-426.
3. Silverman DI, Gray J, Roman MJ et. al. Family history of severe cardiovascular disease in Marfan syndrome is associated with increased aortic diameter and decreased survival. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26 (4): 1062-1067.
4. Mor-Yosef S, Younis J, Granat M, Kedari A, Milgalter A, Schenker JG. Marfan's syndrome in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 1988; 43: 382-385.

5. Vaideeswar P, Pandit SP, Patwardhan AM. Acute aortic dissection in pregnancy. *Indian Heart J* 2004 ; 56 (4) : 354-355.
6. Uchida T, Ogino H, Ando M, Okita Y, Yagihara T, Kitamura S. Aortic dissection in pregnant woman with the Marfan syndrome. *Kyobu Geka* 2002 ; 55(8 Suppl) : 693-696.
7. Stratmann G, deSilva AM, Tseng EE et al. Reversal of direct thrombin inhibition after cardiopulmonary bypass in a patient with heparin-induced thrombocytopenia. *Anesth Analg* 2004 ; 98 (6) : 1635-1639.
8. Dietrich W, Spannagl M. Caveat against the use of activated recombinant factor VII for intractable bleeding in cardiac surgery. *Anesth Analg* 2002 ; 94 (5) : 1369-1370.
9. Shores J, Berger KR, Murphy EA, Pyeritz RE. Progression of aortic dilatation and the benefit of long-term beta-adrenergic blockade in Marfan's syndrome. *N Engl J Med* 1994 ; 330 : 1335-1341.
10. Rossiter JP, Repke JT, Morales AJ, Murphy EA, Pyeritz RE. A prospective longitudinal evaluation of pregnancy in the Marfan syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1995 ; 173 : 1599-606.
11. Finkbohner R, Johnston D, Crawford ES, Coselli J, Milewicz DM. Marfan syndrome. Long-term survival and complications after aortic aneurysm repair. *Circulation* 1995 ; 91 (3) : 728-733.

NOUTĂŢI

VALOAREA PREDICTIVĂ A VARIABILELOR CLINICE ŞI DE LABORATOR ÎN REFLUXUL VEZICO-URETERAL

Identificarea refluxului vezicoureteral (VUR) la copii se realizeaza pe baza uretrocistografiei retrograde micţionale. Un grup de cercetători din Turcia şi-a propus identificarea unor variabile de laborator cu valoare de predictibilitate pentru VUR, la copiii cu infecţie de tract urinar (UTI). În acest scop au evaluat, retrospectiv, copii carea au efectuat uretrocistografie în urma UTI, între 2002 şi 2005, urmărind datele clinice (vârstă, sex, febra ≥38.5°C, UTI recurentă), datele de laborator (leucocitoza, VSH, CRP, piuria, creatinina serică), precum şi modificările imgistice (ultrasonografie renală). Au fost comparate mai multe grupuri de copii : grupul 1 (copii cu VUR) vs. grupul 2 (copii fără VUR), grupul 3 (copii cu VUR de grad mare - III – V) vs. grupul 4 (copii cu VUR de grad mic - I-II). Din 88 pacienţi (24 băieţi) 38 au avut VUR şi 21 VUR de grad mare. Febra ≥38.5°C a fost asociată cu VUR (raportul probabilităţilor (OR) : 7,5). Valoarea CRP de 50mg/L a fsot cel mai bun indicator pentru predicţia VUR de grad mare (OR 15,5, posibilitatea discriminativă 0,89±0,05). practicarea uretrocistografiei bazată pe acest nivel al CRP a relevat 9% din pacienţi cu VUR de grad mare, în timp ce 68% dintre copiii fără/ cu VUR de grad mic au fost scutiţi de acest test de diagnostic invaziv. În concluzie, febra ≥38°C şi CRP >50 mg/L apar ca predictori clinici utili pentru VUR şi respectiv VUR de grad mare în cazul pacienţilor cu UTI. Acest date sunt necesare a fi validate şi de alte studii, ceea ce ar putea limita practicarea de uretrocistografii care nuşi dovedesc indicaţia (Soylu A, Kasap B, Demir K, Türkmen M, Kavukçu S. Predictive value of clinical and laboratory variables for vesicoureteral reflux in children. *Ped Nephrol* 2007 ; 22 (6) : 844-848).

Mihaela Munteanu

RESTRICŢIA DE CREŞTERE INTRAUTERINĂ : O ENTITATE PATOLOGICĂ PENTRU CARE EXISTĂ SOLUŢIE MEDICALĂ

N. Cernea[1], Ştefania Tudorache[1], Liliana Novac[1], Fl. Corniţescu[1], E. Coletă[2], Daniela Cernea[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie Craiova
Facultatea de Medicină
1 Catedra de Obstetrică şi Ginecologie
2 Disciplina Neonatologie
3 Disciplina Anestezie Terapie Intensivă

INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION : A PATHOLOGY FOR WHICH THERE IS A MEDICAL SOLUTION (Abstract) : The diagnosis of fetal well being is an acquisition of the last decades. Today, using ultrasound, the mothers' abdominal wall has become "transparent", allowing a real study of the fetus : evaluation of fetal weight, heart and muscle activity and fetal adnexae. The ultrasound study can be considered an examination of the fetus as an intrauterine patient, not of the mother and the purpose of modern obstetrics is to ensure the well-being of both of them. Flow velocity study with Doppler ultrasound has the purpose to evaluate the feto-placentar, utero-placentar and fetal blood flow and sometimes blood flow redistribution. The authors present the case of a 25 year old patient to whom the decision of C-section was based on clinical and sonografic elements. Ending the pregnancy before term allowed the saving of a baby condemned to death "in utero", in the absence of these new acquisitions in obstetrics ultrasound. **Key words** : FLOW VELOCITY , FETAL WELL BEING

Cea mai importantă preocupare a obstetricienilor a fost, de-a lungul timpului, buna evoluţie a sarcinii, şi – în particular – finalizarea sarcinii printr-o naştere care să aibă ca rezultat o mamă sănătoasă, fericită că are un copil sănătos.

Metodele actuale de investigaţie au făcut posibilă studierea unor aspecte de fiziologie şi de fiziopatologie fetală. Astfel, noţiunea de „sănătate fetală" a devenit o realitate, dând posibilitatea apariţiei unei noi subspecialităţi, medicina fetală.

Este important de înţeles faptul că obţinerea prin actul naşterii a unui nou-născut de calitate, deziderat al oricărui obstetrician, şi raţiunea însăşi de a fi a obstetricii ca ştiinţă (alături de asigurarea sănătăţii mamei), este condiţionată atât de *calitatea asistenţei obstetricale la naştere*, cât şi de *calitatea biologică a fătului*, beneficiar al acestor servicii.

Este deci raţional ca obstetricianul să-şi dorească să poată estima calitatea biologică intrauterină a fătului, măcar din două categorii de motive :

- motive medicale propriu-zise, concretizate prin : adecvarea calităţii şi competenţelor asistenţei neonatale la problemele fătului (ex. : transport intrauterin într-un centru terţiar), previzionarea accidentului hipoxic letal sau nociv, şi extracţia anticipată a fătului dintr-un mediu intrauterin care îi devine din ce în ce mai ostil, eliminarea feţilor cu malformaţii majore, incompatibile cu viaţa extrauterină, şi lista poate continua...

- motive legate de protecţia medico-legală, medico-etică, medico-socială a obstetricianului care asistă naşterea, întrucât există cutuma ca eşecurile biologice fetale intrauterine să fie automat transferate în responsabilitatea medicului, sub masca infailibilă a „traumatismului obstetrical".

Există mai multe categorii de parametri care ne permit să apreciem starea de sănătate fetală, care pleacă de la parametrii clinici, datele biologice, cardiotocografie, şi ajung la datele ecografice (1,2,3).

PREZENTAREA CAZULUI

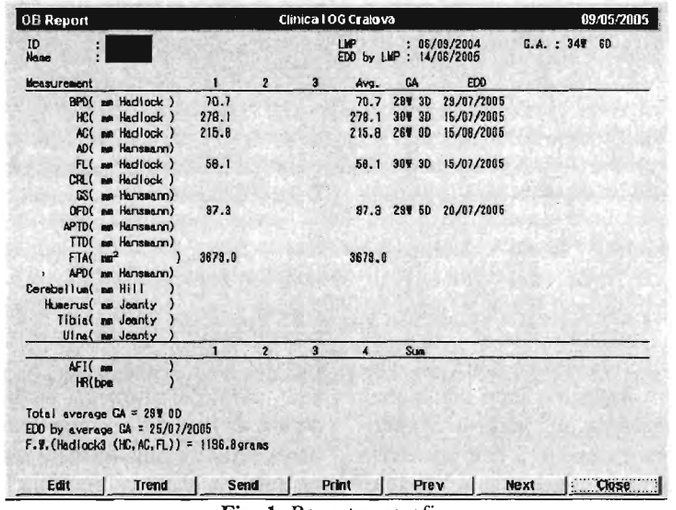
Pacienta în vârstă de 25 de ani, fără antecedente obstetricale în afară de două întreruperi de sarcină la cerere, cunoscută cu boală renală cronică, afirmativ, fără a prezenta nici un act medical despre afecţiunea renală, se internează prin transfer de urgenţă de la un spital orăşenesc, pentru cefalee şi valori tensionale crescute, cu diagnosticul: IIIG, IP, sarcină 35-36 săptămâni, făt viu, unic, prezentaţie craniană, disgravidie de ultim trimestru.

La internare, valorile tensionale erau 180/110 mmHg. Înălţimea fundului uterin era corespunzătoare unei sarcini 27-28 SA. La tuşeul vaginal, FO precizează „col lung, posterior, închis". Examenul sumar de urină a arătat în sediment: numeroase leucocite, izolate şi în grup, frecvente hematii, frecvente epitelii, floră, cilindrii granuloşi prezenţi. Hb 10,4 g%, leucocitoză 17.100, acidul uric sangvin 5 mg%.

Examenul cardiologic la o zi de la internare: pulmonar murmur vezicular prezent, fără raluri de stază; zgomote cardiace ritmice, AV 70 bătăi/min, TA 175/110 mmHg, la ambele braţe, EKG - fără tulburări de repolarizare. Diagnostic: HTAIS.

După încă o zi, examenul fundului de ochi arată: strabism convergent operat în copilărie; FOD - papilă bine conturată, cu excavaţie fiziologică; vase şi retină fără modificări; FOS: papilă ovalară, cu contur şters nazal, cu excavaţie centrală, zonă de atrofie peripapilară.

În aceeaşi zi se cere examinarea ecografică obstetricală, ce arată: „Craniul fetal în segmentul inferior, biometrie fetală corespunzătoare la 29 SA şi 3 zile. Oligoamnios sever, AFI - 1,5 cm. Placentă cu inserţie antero-lateral dreapta şi fundică, Grannum 1. Flux end-diastolic absent la nivelul arterei ombilicale. Artera cerebrală medie (ACM):


OB Report — Clinica I OG Craiova — 09/05/2005

ID : [redacted]
Name :

LMP : 06/09/2004 G.A. : 34W 6D
EDD by LMP : 14/06/2005

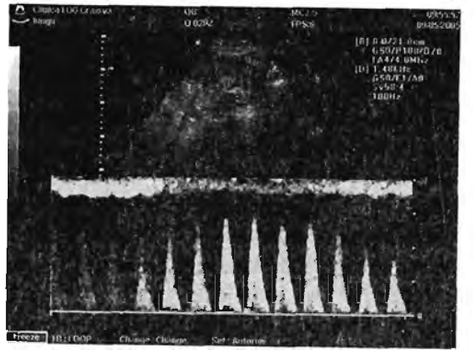
Measurement	1	2	3	Avg.	GA	EDD
BPD(mm Hadlock)	70.7			70.7	28W 3D	29/07/2005
HC(mm Hadlock)	278.1			278.1	30W 3D	15/07/2005
AC(mm Hadlock)	215.8			215.8	26W 0D	15/08/2005
AD(mm Hansmann)						
FL(mm Hadlock)	58.1			58.1	30W 3D	15/07/2005
CRL(mm Hadlock)						
GS(mm Hansmann)						
OFD(mm Hansmann)	97.3			97.3	29W 5D	20/07/2005
APTD(mm Hansmann)						
TTD(mm Hansmann)						
FTA(mm²)	3678.0			3678.0		
APD(mm Hansmann)						
Cerebellum(mm Hill)						
Humerus(mm Jeanty)						
Tibia(mm Jeanty)						
Ulna(mm Jeanty)						

	1	2	3	4	Sum
AFI(mm)					
HR(bpm)					

Total average GA = 29W 0D
EDD by average GA = 25/07/2005
F.W.(Hadlock4 (HC,AC,FL)) = 1186.8grams

Edit | Trend | Send | Print | Prev | Next | Close

Fig. 1. Raport ecografic



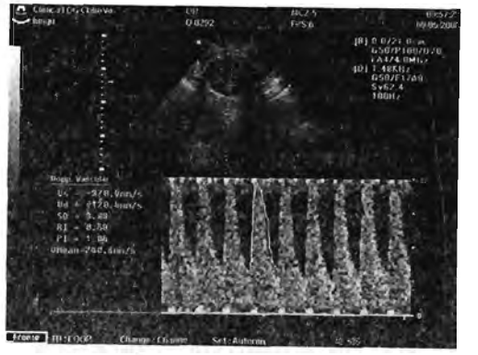


Fig. 2. a Flux end diastolic absent la nivelul arterei ombilicale; b La 5 min interval

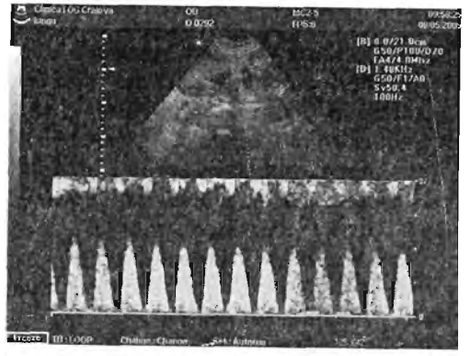


Fig. 3. Fluxul în artera cerebrală medie

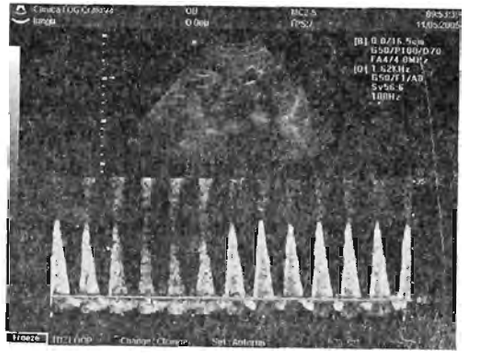


Fig. 4. Artera ombilicală. Flux end-diastolic inversat

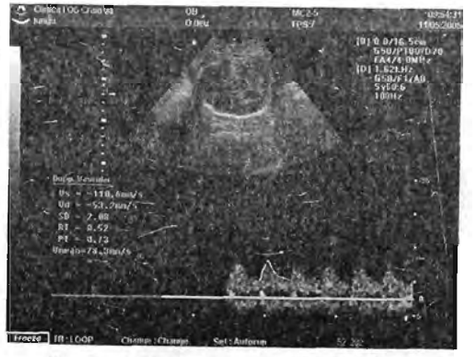


Fig. 5. Fluxul în artera cerebrală medie

PI 1,04, RI 0,68, S/D 3,08. Greutate estimată 1200 g. Concluzie: restricţie severă de creştere intrauterină, cu redistribuţie circulatorie" (fig. 1, 2, 3).

După două zile s-a cerut din nou examinare ecografică. Ea a precizat următoarele: „MCF 149b/min. AFI 1,5. Grannum placentar 2. Flux end-diastolic inversat. ACM: PI 0,71, RI 0,52, S/D 2,08. Biometrie fetală corespunzătoare la 29 SA. Greutate estimată 1200g. Concluzie: iminenţă de moarte fetală *„in utero"* (fig. 4 , 5).

S-a decis intervenţia chirurgicală, în interes fetal: „pentru suferinţă fetală cronică, restricţie severă de creştere intrauterină, cu iminenţă de MIUF", în condiţiile în care ecografiile de la debut de sarcină arătau faptul că vârsta gestaţională a sarcinii era de 34 săptămâni şi 3 zile.

S-a extras un făt de sex feminin, 1150 grame, scor Apgar 7 la un minut.

Intraoperator s-a constatat lichid de ascită la deschiderea peritoneului, care a avut culturi sterile. Extracţia placentei s-a făcut

cu foarte multă dificultate, având aderenţe patologice la miometru. S-a produs hipotonie intraoperatorie gravă. Hemoragia intraoperatorie a fost dificil de stăpânit şi a impus ligatura bilaterală de hipogastrică, multiple suturi de plicaturare la nivelul segmentului inferior şi al bordului uterin stâng, ca şi montarea intrauterin a unei sonde Foley, cu umflarea balonaşului, exteriorizată prin canalul cervical. Sonda a fost lăsată de loc 30 de ore.

În prima zi postoperator, pacienta avea 7 g% de Hb. Evoluţia ei a fost trenantă. Din ziua a doua postoperator s-a instalat febra de tip septic, iar la nivelul peretelui abdominal anterior s-a format un hematom voluminos. Tratamentul a inclus antibiotice (Timentin fl II), multiple transfuzii, evacuarea hematomului parietal, PEV, uterotonice.

La două zile postoperator, pacienta prezintă hematemeză şi melenă, fenomen care impune din nou transferul în secţia de terapie intensivă. Testul la procalcitonină (valoare 10) arată sepsis pozitiv, dar hemoculturile s-au menţinut negative, pacienta fiind sub tratament cu antibiotice în doze mari. Sub antiacide şi aspiraţie digestivă superioară, nu se mai repetă episoade de HDS, iar după 3 zile se reia tranzitul intestinal pentru gaze.

În ziua a 6-a postoprator, tomografia computerizată arată: „pe cupele supradiafragmatice, lamă de lichid la nivelul cavităţii pleurale stângi; parenchim hepatic omogen, fără dilataţii de căi biliare intrahepatice, integritatea arborelui biliar, cu depozit la nivelul vezicii biliare. Colecţii lichidiene cloazonate perihepatic şi în flancul stâng. Drepţii abdominali cu diametrul mărit, bule de gaz şi colecţii lichidiene la periferie, cu aspect împăstat. Corp uterin mărit de volum neomogen, nativ şi postcontrast. Concluzii: masă pelvină de aspect infecţios, cu bule de gaz, colecţii lichidiene închistate, flegmon uterin, fără spaţiu de clivaj vizibil cu drepţii abdominali şi vezica urinară. Sonda de drenaj vizibilă, cu prezenţa bulelor de gaz în vecinătatea căii de abord şi neomogenitatea peretelui adiacent. Colecţii lichidiene subhepatice şi în flancul stâng. Rinichi în limite normale CT".

La 8 zile după intervenţie pacienta nu mai prezintă febră înaltă, fiind doar subfebrilă vesperal, Hb este 8,4, leucocitoza 12500%. Hematomul parietal îşi micşorează treptat volumul, fenomen evident atât clinic, cât şi la măsurătorile ecografice.

La 13 zile postoperator pacienta devine afebrilă.

Nou-născutul a evoluat, de asemenea, dificil, el necesitând manevre de resuscitare. Alimentaţia parenterală totală a fost necesară 2 zile. S-a făcut antibioterapie 12 zile (Rocephin+colistin, 7 zile, şi ampicilină + gentamicină 6 zile. A fost menţinut în condiţii de incubator şi a necesitat oxigenoterapie 6 zile, iar confort termic încă 4 zile. Au fost necesare două transfuzii cu masă eritrocitară.

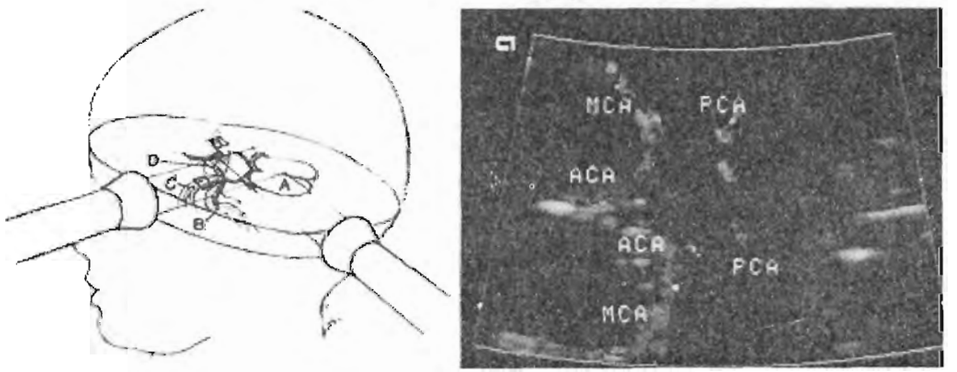


Fig. 6. Planul folosit in ecografia Doppler pentru a studia ACM: A – punte; B – artera carotida interna; C – artera cerebrala medie; D – artera cerebrala anterioara (după Mari G et al.)

Alimentaţia s-a administrat progresiv, cu lapte matern, prin gavaj, apoi la seringă, şi apoi la biberon.

Diagnosticele secundare au fost: prematuritate, hipoxie perinatală, adaptare dificilă la viaţa extrauterină.

Pacientele au părăsit spitalul după 47 de zile de la intervenţie. Mama era vindecată chirurgical, fără acuze, cu lactaţie fiziologică şi stare generală bună, iar nou-născuta cântărea 1400 g.

DISCUŢII

Fătul cu RCIU este definit ca un făt care nu atinge potenţialul de dezvoltare normală. Factorii de mediu responsabili pot fi: bolile sistemice ale mamei (diabet, hipertensiune, afecţiuni renale cronice, boli vasculare de colagen, preeclampsie), tabagismul, consumul de droguri sau alterări ale perfuziei uteroplacentare (6,7).

Anomalii ale instalării circulaţiei utero-placentare şi alterări în menţinerea perfuziei utero-placentare reprezintă probabil cea mai frecventă cauză a RCIU. Totuşi, la paciente fără factori de risc nu cunoaştem primum movens responsabil pentru instalarea insuficienţei placentare.

În majoritatea cazurilor, apariţia RCIU nu este repetitivă la sarcinile ulterioare. Cu toate acestea, în unele cazuri, RCIU reapare la toate sarcinile ulterioare (RCIU recurentă idiopatică) (8,9).

Fătul cu RCIU prezintă un risc mai mare în ceea ce priveşte prognosticul perinatal nefavorabil, în comparaţie cu feţii normali şi cu feţii care au o greutate mică de cauză constituţională. Studiul ultrasonic Doppler poate contribui la identificarea feţilor cu greutate mică datorată insuficienţei uteroplacentare. Cele două artere care trebuie investigate obligatoriu prin studiu Doppler, în cazul suspiciunii de RCIU, sunt AOmb şi ACM. În viitor, s-ar putea folosi Dopplerul spectral la nivel venos.

În cazul insuficienţei placentare, rezistenţa la nivel placentar este mai mare, fapt care se evidenţiază prin reducerea componentei diastolice a undelor la nivelul AOmb. Se consideră că un spectru anormal la nivelul AOmb are o valoare a IP (sau IR sau S/D) superioară valorii normale pentru VG respectivă. Atunci când insuficienţa placentară se agravează viteza diastolică descreşte, apoi devine absentă şi după un timp se inversează (10,11,12)

Experimentele efectuate pe animale şi pe subiecţi umani au arătat că în cazul RCIU există o creştere a fluxului sanguin la nivel cerebral. Această creştere poate fi demonstrată cu ajutorul ultrasonografiei Doppler la nivelul ACM. Acest efect a fost denumit brain sparing *effect* (BSE) – efectul de cruţare cerebrală (ECC) şi este evidenţiat printr-o valoare mică a IP. Este important de menţionat că IP la nivelul MCA se modifică odată cu avansarea sarcinii, ca de altfel şi valorile indicilor Doppler la nivelul Aomb (13).

La feţii cu RCIU, cu valori ale IP la nivelul ACM sub normal, prognosticul nefavorabil perinatal al fătului este mai frecvent întâlnit. ECC poate fi tranzitoriu, aşa cum s-a constatat prin inducerea hipoxemiei prelungite experimental, la animale, iar feţii la care este depăşit potenţialul de adaptare (feţii „hiperstresaţi") la subiecţi umani, poate, de asemenea, să se înregistreze o „pierdere a ECC". Este, de asemenea, demonstrat faptul că IP la nivelul ACM scade sub valoarea normală atunci când sunt prezente concentraţii scăzute ale O_2 (valori mici ale PO_2). Scăderea maximă a IP se atinge atunci când PO_2 fetal are 2

până la 4 deviaţii standard sub valoarea normală pentru VG respectivă. Dacă deficitul de oxigen este şi mai mare, există tendinţa ca IP să crească ; se presupune că aceasta reflectă apariţia edemului cerebral (14).

La feţii cu RCIU, dispariţia ECC şi/sau prezenţa fluxului sanguin inversat la nivelul ACM reprezintă o situaţie critică pentru făt şi pare să preceadă decesul acestuia. Acest fapt s-a confirmat la feţii la care părinţii au refuzat intervenţia obstetricală. Din nefericire, pentru a demonstra acest concept, este necesar să se efectueze un un studiu longitudinal pe feţi cu RCIU severă, care să fie continuat până în momentul decesului fătului.

S-a demonstrat faptul că, la feţii cu creştere adecvată vârstei de gestaţie, raportul cerebro-placentar (ACM/Aomb) rămâne constant după 30 săptămâni de sarcină (16).

Bahado-Singh et al. au constatat o creştere statistică semnificativă a morbidităţii şi a mortalităţii perinatale în cazurile cu un raport cerebro-placentar anormal (sub valoarea 1). Acest raport a părut a îmbunătăţi predicţia prognosticului perinatal, în comparaţie cu velocimetria arterei ombilicale ca parametru unic. Raportul cerebro-placentar nu pare totuşi a se corela semnificativ cu prognosticul fetal la VG de peste 34 săptămâni. Actual a fost demonstrat faptul că ECC oferă o compensare doar de scurtă durată în cazul feţilor cu RCIU severă şi se pare că momentul apariţiei acestuia ar fi cel mai potrivit pentru a se practica extracţia acestora, dacă există argumente pentru afirmarea maturităţii pulmonare (2).

Oligohidramniosul este asociat cu un risc mai mare de lichid amniotic meconial, cu suferinţă fetală, cu scor Apgar scăzut la naştere, cu RCIU, iar operaţia cezariană este de 3 ori mai frecventă. OHA idiopatic are un risc de naştere prematură de 3 ori mai mare şi sporeşte mortalitatea perinatală de 50 de ori. OHA din insuficienţa uteroplacentară are drept cauză directă scăderea diurezei fetale. Se asociază frecvent cu : RCIU, asfixia intrapartum şi moartea fetală.

Nicolaides afirmă că scăderea diurezei feţilor cu RCIU se corelează cu gradul de hipoxemie, probabil că un răspuns endocrin la stresul intrauterin, cu creşterea secreţiei de vasopresină ; ea produce şuntarea sângelui către cord şi SNC şi ischemie renală consecutivă (14,15).

Experienţa clinică demonstrează faptul că, între săptămânile 28 şi 34 de gestaţie, în cazurile cu AOmb şi ACM anormale, dar cu o frecvenţă cardiacă fetală normală, monitorizarea şi urmărirea PBF, cu un management conservator, reprezintă cea mai bună opţiune. După 34 de săptămâni, este indicată amniocenteza şi, dacă raportul L/S (lecitină / sfingomielină) este mai mare de 2,5, cu PG (fosfatidilglicerol) pozitiv, se induce „coacerea" colul uterin şi se iniţiază inducţia travaliului. Există autori care afirmă faptul că rezultate anormale la studiul Doppler la nivelul arterei ombilicale şi cerebrale medii, ca parametrii unici, nu pot decide momentul în care fătul trebuie scos. Ar trebui ca aceste rezultate să fie corelate cu alte investigaţii, ca profilul biofizic fetal şi evaluarea în dinamică a creşterii fetale. Valoarea clinică a studiilor Doppler la nivelul acestor două site-uri este aceea de a selecta care feţi necesită spitalizare şi supraveghere intensivă

CONCLUZII

1. Restricţia de creştere intrauterină (RCIU) rămâne o problemă obstetricală serioasă, atât datorită dificultăţilor în identificarea acestor feţi, cât şi datorită asocierii unei mortalităţi şi morbidităţi perinatale crescute. Din păcate încă nu s-a putut elabora o definiţie clară asupra termenului de restricţie de creştere, şi cele mai multe statistici includ grupa nou-născuţilor „mici pentru VG" sau chiar doar „mici" (nou-născuţi cu greutate mică la naştere, şi atât) în loc să includă în statistici feţii cu adevărat afectaţi în mod patologic. Cu toate acestea, examinarea ecografică ne dă oportunitatea de a clasifica grupul feţilor în mod real restricţionaţi în creştere, pe baza volumului lor (sub 5 %), pe baza creşterii încetinite a circumferinţei abdominale, a scăderii LA, şi pe baza prezenţei spectrelor Doppler anormale la nivelul arterei ombilicale (şi la nivelul arterelor uterine).

2. Este clar că în evaluarea unui făt suspectat de restricţie de creştere trebuie folosite un număr de tehnici în care explorarea ultrasonică este doar una. Factorii de risc obstetricali pentru apariţia RCIU, ca hipertensiunea, bolile renale sau autoimune, sunt importanţi, împreună şi alături de cardiotocografii, şi dacă este posibil şi de studiul Doppler.

3. Obiectivul în viitor este acela de a construi o vedere de ansamblu asupra stării de sănătate fetală, asupra condiţiilor care concură la aceasta, şi acela de a dezvolta o strategie clinică pentru a optimiza prognosticul sarcinii.

BIBLIOGRAFIE

1. *** American College of Obstetrics and Gynecology (ACOG). Utility of antepartum umbilical artery Doppler velocimetry in intrauterine growth retardation. Committee Opinion No. 188, ACOG, November 2005.
2. Bahado-Singh R, Kovanci E, Jeffres Aet al. The Doppler cerebroplacental ratio and perinatal outcome in intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1999 ; 180 : 750-756.
3. Dewbury K, Meire H, Cosgrove D, Farrant P. *Ultrasond Obstet Gynaecol* 2001 ; 3 (9-10) : 213-243.
4. Fleischer AC, Manning FA, Jeanty P, Romero R. *Sonography in Obstetrics and Gynecology.* Prentice-Hall International Inc, 2001, 16 : 383-387.
5. Goffinet F, Paris J, Nisand I, Breart G : Utilite clinique du Doppler ombilical. *J Gynecol Obstet Reprod* 1997 ; 26 : 16-25.
6. Grandjean H, Larroque D, Levi S. The performance of routine ultrasonographic screening of pregnancies in the Eurofetus Study. *Am J Obstet Gynecol* 1999 ; 181 : 446-454.
7. Gudmundsson S, Tulzer G, Huhta JC et al. Venous Doppler in the fetus with absent end-diastolic flow in the umbilical artery. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996 ; 7 : 262-267.
8. Hecher K, Hackeloer BJ. Cardiotocogram compared to Doppler investigation of the fetal circulation in the premature growth-restricted fetus : Longitudinal observation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997 ; 9 : 152-161.
9. Joern H, Rath W. Comparison of Doppler sonographic examinations of the umbilical and uterine arteries in high-risk pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 1998 ; 13 : 150.
10. Kurkinen-Raty M, Kivela A, Jouppila P. The clinical significance of an absent end-diastolic velocity in the umbilical artery detected before the 34th week of pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997 ; 76 : 398-404.
11. Mari G, Abuhamad AZ, Keller M et al. Is the fetal brain sparing effect a risk factor for the development of IVH in the premature infant? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006 ; 8 : 329-332.
12. Mari G, Detter R, Middle cerebral artery flow velocity waveforms in normal and small for gestational age fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 2002 ; 166 : 1262-1270.
13. Neales K et al. Doppler ultrasonography in high risk pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2005 ; 172 : 1379-1387.
14. Pelinescu-Onciul D, Bari M. Ecografia în obstetrică şi ginecologie. 2005, 6 : 171-186.
15. Pelinescu-Onciul D. *Medicina materno-fetală*, 2005.
16. Schaap AHP, Wolf H, Bruinse HW et al. Influence of obstetric management on outcome of extremely preterm growth retarded infants. *Arch Dis Child* 2007 ; 77 : 95-99.

17. Sonesson SE, Fouron JC, Drblik S, Tawile C, Lessard M, Scott A. Reference values form Doppler velocimetric indices from the fetal and placental ends of the umbilical artery during normal pregnancy. *JCU* 2003 ; 21 : 317-324.
18. *** The GRIT Study Group. When do obstetricians recommend delivery for a high risk preterm growth retarded fetus? *Eur J Obstet Gynecol* 2006 ; 67 : 121-126.
19. Vyas S, Nicolaides K, Bower S, Campbell S. Middle cerebral artery flow velocity waveforms in fetal hypoxaemia. *Br J Obstet Gynecol* 2002 ; 97 : 797-803.
20. Weiner Z, Farmakides G, Schulmann H, Penny B. Central and peripheral hemodynamic changes in fetuses with absent end-diastolic velocity in umbilical artery : Correlation with computerized fetal heart rate pattern. *Am J Obstet Gynecol* 2004 ; 170 : 509-515.
21. Whittle M, Hanretty K, Primrose M, Neilson J, Screening for the compromised fetus : a randomized trial of umbilical artery velocimetry in unselected pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2004 ; 170 : 555-559.

NOUTĂŢI

PROTEINA AMILOID APin - PREZENTĂ ÎN MATURAREA ŞI MINERALIZAREA SMALŢULUI

În cadrul extins al cercetărilor experimentale care vizează descifrarea procesului de dezvoltare a dinţilor, după ce proteina amiloid APin a fost identificată în ADN-ul odontoblastelor, un alt studiu a urmărit exprimarea şi localizarea acesteia în ameloblaste. Materialul utilizat, investigat prin imunohistochimie şi hibridizare in situ, a fost reprezentat de dinţi de şobolani. Localizarea intracelulară a APin este diferită în cursul diferenţierii ameloblastelor, fiind specifică în raport de stadiu. Astfel, ARN-ul mesager pentru APin nu este exprimat în preameloblaste, este slab exprimat în ameloblastele secretorii şi puternic exprimat în ameloblastele în stadiu de maturare, precum şi în epiteliul joncţional ataşat de smalţ, la molarii erupţi. Pentru stadiul de maturare, APin a fost identificată supranuclear (la nivelul complexului Golgi) în varianta ameloblastelor cu "margine netedă" şi deopotrivă supranuclear şi la nivelul polului apical, în varianta ameloblastelor cu "margine încreţită". În cultură celulară, APin a fost exprimată la nivel scăzut în stadiile precoce şi, respectiv, la nivel ridicat în stadiile tardive - acestea din urmă, echivalente ale maturării. Tot în cultură, APin a fost secretată în cantităţi importante de celulele infectate cu acid nucleic viral purificat, caracterizate prin replicare virală intracelulară. De asemenea, supraexpresia APin a determinat o creştere a expresiei MMP-20 şi a tuftelinei, iar inactivarea - o descreştere a celor două molecule proteice menţionate. Aceste rezultate indică pentru APin un rol funcţional în maturarea şi mineralizarea smalţului, rol mediat prin intermediul MMP-20 şi tuftelinei. (Park JC, Park JT, Son HH, Kim HJ, Jeong MJ, Lee CS, Dey R, Cho MI. The amyloid protein APin is highly expressed during enamel mineralization and maturation in rat incisors. *Eur J Oral Sci* 2007 ; 115 : 153-160.)

Irina-Draga Căruntu

HIPERTERMIA SUPERFICIALĂ CU MICROUNDE PARAMETRI FIZICI DE TRATAMENT DETERMINAŢI PE FANTOM EXPERIMENTAL

Anca Munteanu[1], Fl. Munteanu[1], E. Bild[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr.T. Popa" Iaşi
1 Facultatea de Bioinginerie Medicală
2 Facultatea de Medicină

SUPERFICIAL MICROWAVES HYPERTHERMIA - PHYSICAL TREATMENT PARAMETERS OBTAINED ON EXPERIMENTAL PHANTOM (Abstract) : Aim : To present the physical treatment parameters of superficial hyperthermia device that may be used in cancer treatment in association with radiotherapy. **Material and methods** : First step is to present the way to measure continuous temperature, the deep and surface temperature distribution obtained by using hyperthermia device. Second step is to describe the experimental protocol. **Results** : Some physical parameters were obtained by measuring the temperature on the experimental phantom : deep penetration and superficial distribution. These values help to evaluate the useful therapeutic surface and optimal deep penetration of the treatment temperature. **Key words** : HYPERTHERMIA, CANCER TREATMENT, MICROWAVES

Hipertermia este o metodă de tratament a neoplaziilor maligne care se aplică singură sau în asociere cu terapiile oncologice clasice, cu scop de radio-chimiosensibilizare a celulelor tumorale. Agenţii fizici utilizaţi în obţinerea de temperaturi ridicate pentru distrugerea tumorilor, situate în intervalul 41-45°C, sunt multipli : câmpuri eletromagnetice (microunde de înaltă sau joasă frecvenţă, câmpuri de radiofrecvenţă) sau ultrasunete la frecvenţe cuprinse între 0,3 şi 10 MHz.

Hipertermia superficială (locală) se aplică în cazul leziunilor tumorale (ORL, mamare, cutanate) care se găsesc la profunzimi de maximum 5 cm, în general 2-3 cm.

Cel mai frecvent sunt utilizate câmpuri de microunde de 433 MHz, 915 MHz şi 2450 MHz sau ultrasunete de 1-3 MHz (1).

Similar distribuţiei izodozelor în volumul ţintă tumoral în radioterapie, hipertermia presupune o distribuţie uniformă a temperaturii în volumul tumoral (2,3).

Pentru a monitoriza temperatura în regim continuu în timpul funcţionării aparatului de hipertermie se folosesc metode dozimetrice invazive (micro-termocupluri teflonate încapsulate în ace de calibru mic la nivelul tumorii şi peritumoral) şi metode noninvazive (radiometria cu microunde, rezonanţa magnetică nucleară) (3,4) .

MATERIAL ŞI METODĂ

Experimentele au fost realizate cu un aparat de hipertermie cu microunde, proiectat şi realizat în cadrul Clinicii de Oncologie-Radioterapie în colaborare cu Facultatea de Bioinginerie Medicală şi Facultatea de Fizică Iaşi. Aparatul funcţionează la frecvenţa de 2450 MHz. Construcţia acestuia permite atât modificarea puterii magnetronului de la 100 W la 800 W cât şi poziţionarea aplicatorului în funcţie de distanţa şi înclinarea zonei ce urmează a fi încălzită.

În vederea unei corecte evaluări a temperaturii în timpul tratamentului prin hipertermie s-a folosit un sistem de monitorizare continuă a temperaturii.

Acesta este format dintr-un termistor încapsulat, conectat într-un circuit electric tip semipunte. S-a folosit un termistor de tip PTC a cărui rezistenţă nominală, la 25°C, este R_{T0} = 10 W. Termistorul are o formă cilindrică, cu diametrul de 10 mm şi înălţimea de 2 mm, acesta fiind încapsulat într-un paralelipiped de ebonită.

Pentru o determinare optimă a temperaturii, pe suprafaţa termistorului s-a lipit o lamelă din cupru (cu un coeficient de transfer termic ridicat), care iese din capsula de ebonită, etanşarea ulterioară făcându-se cu un adeziv pe bază de silicon. Termistorul a fost montat într-un circuit de tip semipunte, fiind înseriat cu o rezistenţă cu peliculă metalică de precizie ridicată, cu valoarea R = 10 W.

Curenţii care trec prin R şi R_T sunt aproximativ egali, întrucât datorită impedanţei de intrare mari a plăcii de achiziţie, curentul care trece spre canalul 1 este mult mai mic decât cei care trec prin termistor şi rezistenţă.

O bornă a termistorului a fost conectată la masa plăcii de achiziţie, cealaltă bornă a rezistenţei a fost conectată la pinul cu tensiunea de +5 V de la placa de achiziţie, iar borna comună a fost legată la canalul nr. 1 al plăcii de achiziţie date (fig. 1).

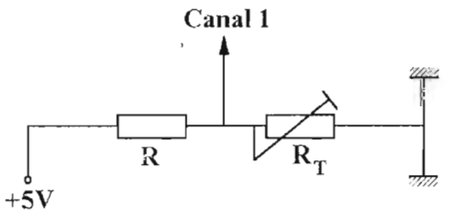


Fig. 1. Schema semipunţii în care a fost montat termistorul: R este rezistenţa cu peliculă metalică, iar R_t corespunde termistorului

Atunci când termistorul este introdus într-un volum de fantom, aflat la o anumită temperatură T, acesta îşi modifică rezistenţa. Ştiind că la bornele semipunţii este o tensiune constantă (5 V), la temperatura de 25°C, tensiunea se va împărţi în mod egal pe cele două rezistenţe (deoarece termistorul şi rezistenţa cu peliculă metalică au aceeaşi valoare). La încălzirea termistorului, rezistenţa acestuia devine $R_T > R_{T0}$. Deoarece rezistenţele sunt în serie curentul care circulă prin ele are aproximativ aceeaşi valoare. Odată cu creşterea rezistenţei termistorului, va creşte şi tensiunea de la bornele acestuia.

Tensiunea variabilă de la bornele termistorului este preluată de placa de achiziţie date, iar valorile tensiunii sunt stocate într-o bază de date.

Conversia dintre tensiunea de la bornele termistorului culeasă de placa de achiziţie date şi temperatura înregistrată de termistor s-a făcut în felul următor: s-a încălzit un volum de apă până la temperatura de 48°C, iar în volumul de apă s-a introdus termistorul. S-a măsurat temperatura cu un termometru în fiecare minut, timp de 30 min. Concomitent a fost pus în funcţie şi sistemul de măsurare continuă a temperaturii, care a înregistrat o valoare a tensiunii în fiecare secundă.

În urma medierii a 10 astfel de determinări s-a obţinut factorul de conversie tensiune-temperatură, k_{UT}:

$$k_{UT} = 13{,}703 \frac{^\circ C}{V}$$

Pentru a afla temperatura în diferite puncte dintr-un volum încălzit, măsurată cu sistemul de monitorizare continuă, se înmulţeşte tensiunea afişată de computer cu factorul de conversie k_{UT}. În situaţia în care se urmăreşte un interval de temperatură situat între 41°C şi 43,5°C, tensiunea trebuie să fie cuprinsă în intervalul: 2,992 V şi 3,175 V.

Fig. 2. Fantomul din ţesut animal folosit pentru experimente

A doua modalitate de determinare a temperaturii, dar de această dată la suprafaţa volumului de fantom, a fost cu o cameră de termoviziune tip ThermaCAM™B2, care se află în dotarea Laboratorului de Microunde din cadrul Facultăţii de Bioinginerie Medicală. Preluarea imaginilor cu această cameră de termoviziune s-a făcut concomitent cu utilizarea sistemului de monitorizare continuă atunci când acesta din urmă a înregistrat temperaturile de 41°C şi 43,5°C (interval de temperatură recomandat cel mai frecvent în tratamentul cu hipertermie).

Fantomul experimental a fost din ţesut animal, de formă paralelipipedică, cu grosime de 5 cm şi cu dimensiunile suprafeţei de aproximativ 15 cm × 10 cm egale cu cele ale suprafeţei aplicatorului (fig. 2).

Protocolul experimental a cuprins mai multe etape. S-a plasat termistorul în fantom la o profunzime de 2 cm, apoi fantomul a fost imersat într-o cuvă cu apă fiind poziţionat la o distanţă de 0,5 cm faţă de aplicator.

S-a declanşat simultan funcţionarea atât a dispozitivului de hipertermie cât şi a sistemului de monitorizare continuă a temperaturii.

Fantomul din ţesut animal a fost preîncălzit, cu ajutorul aparatului de hipertermie, de la temperatura camerei (25°C) până la o temperatură de 37°C.

S-a făcut o întrerupere de 1 min atunci când tensiunea de la bornele termistorului (ce poate fi vizualizată pe display-ul calculatorului) a atins valoarea de 2,99 V, care corespunde unei temperaturi de 41°C.

La această temperatură s-a preluat o imagine cu ajutorul camerei de termoviziune care ilustrează distribuţia de temperatură pe suprafaţa fantomului.

S-a continuat până când s-a atins timpul de tratament de 30 min, moment în care s-a oprit funcţionarea aparatului de hipertermie şi a sistemului de monitorizare continuă a temperaturii.

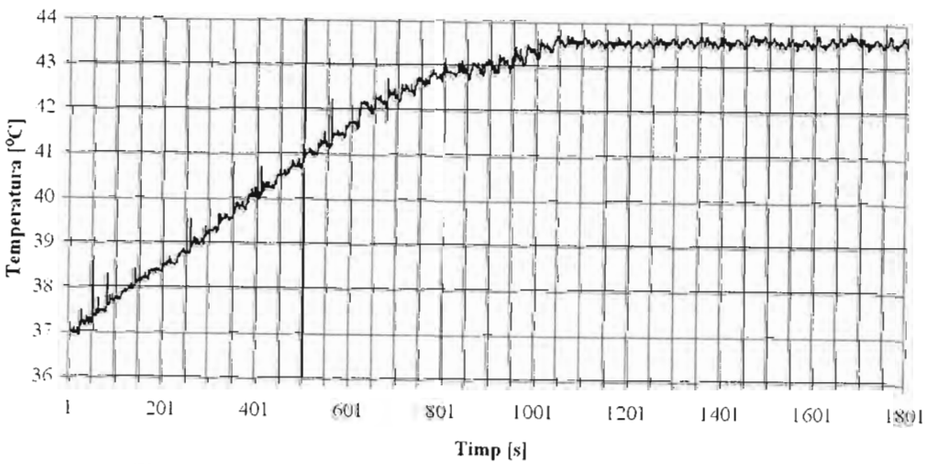


Fig. 3. Diagrama variaţiei temperaturii în funcţie de timpul de expunere

Fig. 4. Distribuţia de temperatură pe suprafaţa fantomului, când în profunzime sunt 41°C

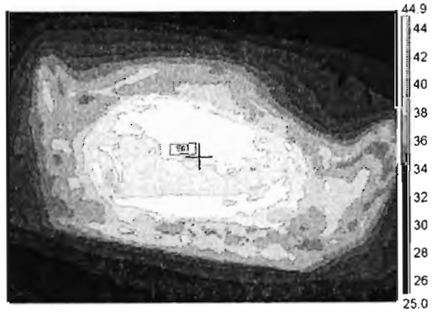


Fig. 5. Distribuţia de temperatură pe suprafaţa fantomului, când în profunzime sunt 43,5°C

Imediat după oprire, s-a preluat o altă imagine care oferă informaţii asupra distribuţiei de temperatură pe suprafaţa fantomului încălzit.

REZULTATE

După poziţionarea fantomului la o distanţă de 0,5 cm de aplicator centrat faţă de acesta, s-au pornit concomitent aparatul de hipertermie setat la o putere de 100 W şi sistemul de monitorizare continuă a temperaturii. Valorile tensiunilor culese de placa de achiziţie date au fost convertite de către soft-ul plăcii de achiziţie într-o bază de date şi ulterior au fost importate în Microsoft Excel. Înmulţind valorile cu factorul de conversie tensiune-temperatură a rezultat o diagramă a temperaturii în funcţie de timp ilustrată în fig. 3.

Pe diagramă este marcat cu o linie verticală momentul în care s-a preluat prima imagine cu'aparatul de termovizine imagine reprezentată în figura 4. A doua imagine a fost preluată imediat după oprirea încălzirii, la 1800 s (fig. 5).

DISCUŢII

Analizând diagrama din figura 3 se observă că temperatura creşte până la valoarea de 43,5°C după care se stabilizează.

Porţiunea crescătoare poate fi împărţită în două zone: prima până la temperatura de 41°C corespunzătoare unui interval temporal de 500 s (8 min şi 20 s) ceea ce corespunde unei viteze de încălzire de 0,48°C/min. A doua zonă cuprinsă între 500 s ÷ 1050 s (9 min şi 10 s) este caracterizată de o viteză de încălzire de 0,27°C/min. Împărţirea duratei de încălzire în aceste zone este aleasă în funcţie de intervalul de temperatură care este acceptat ca optim pentru tratamentul prin hipertermie. Practic, timpul total de tratament este de 30 min, iar timpul util de tratament (41 ÷ 43,5°C) este de aproximativ 15-22 min ceea ce corespunde cu datele din literatura de specialitate (5, 6). De asemenea se observă că variaţia tensiunii are o formă de „dinte de ferăstrău": pentru o perioadă de timp magnetronul se cuplează şi generează energie, după care acesta se decuplează. În timpul în care magnetronul nu mai este cuplat, are loc procesul de difuzie în interiorul fantomului, ceea ce duce implicit la scăderea temperaturii, un ciclu de cuplare-decuplare al magnetronului are durata de 30 s, la o putere de 100 W.

Din imaginile ilustrate în figura 4 şi figura 5, se observă că la suprafaţă, temperaturile au valori mai mari decât în profunzime, cu 0,6°C atunci când la o adâncime de 2 cm sunt 41°C şi 0,7°C când la

aceeaşi profunzime sunt 43,5°C. Acest fenomen poate fi explicat prin faptul că încălzirea este mai intensă la o distanţă mai mică de aplicator. Diferenţa dintre temperaturile de suprafaţă şi cele din profunzime este destul de mică, fapt concordant cu incidenţa şi intensitatea foarte reduse a efectelor secundare acute (arsuri) şi cronice (fibroză) la nivelul pielii.

CONCLUZII

La un aparat de hipertermie cu microunde au fost determinaţi experimental, pe un fantom din ţesut animal, parametrii fizici de lucru. Variaţia temperaturii în profunzime, distribuţia de temperatură pe suprafaţă, precum şi timpul util de tratament recomandă aparatul pentru protocol experimental în tratamentul multimodal al leziunilor tumorale superficiale.

BIBLIOGRAFIE

1. Sterzer F, Paglione R, Nowogrodzki M. Microwave apparatus for the treatment of cancer. *Microw J* 1980; 1: 39-44.
2. Gibbs FA Jr. Thermal mapping in experimental cancer treatment with hyperthermia: description and use of a semi-automatic system. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1983; 9: 1057-1063.
3. Perez AC, Jones EL. Hyperthermia. In: *Principles and Practice of Radiation Oncology*. 2004, 699-730.
4. Dewhirst MW. Thermal dosimetry. In: Seegenschmiedt M, Fessenden P, Vernon CC editors. *Thermoradiotherapy and Thermochemotherapy*. Berlin: Springer-Verlag, 1995, 123-128.
5. Oleson JR et al. Tumor temperature distributions predict hyperthermia effect. *Int J Radiation Oncol Biol Phys* 1989; 16: 559-570.
6. Strohbehn JW. Hyperthermia equipment evaluation. *Int J Hyperthermia* 1994: 10: 429-432.

NOUTĂŢI

BENEFICII ALE TRATAMENTULUI CU DOLOTEFFIN®

Doloteffin® (Ardeypharm GmbH, Germania) condiţionează un extract apos obţinut din tuberculii de ordinul II ai speciei *Harpagophytum procumbens* (Burchelle) De Candolle cu un conţinut în harpagozidă de peste 1% (raport drog : extract = 1,5 - 2,5 : 1). Harpagozida este o glicozidă iridoidică majoră din *Harpagophytum procumbens* ale cărei efecte antiinflamatoare sunt însă controversate. Este bine cunoscut faptul că extractele din *Harpagophyti tuber* acţionează antiinflamator prin inhibarea ciclooxigenazelor şi lipoxigenazelor, precum şi prin eliberarea unor citokine care modulează răspunsul inflamator. Ca în cazul multor fitopreparate, principiile active răspunzătoare de efectele antiinflamatoare nu sunt cunoscute. Chrubasik S et al. au investigat eficacitatea administrării Doloteffin® în doză echivalentă la 60 mg harpagozidă/zi timp de 54 săptămâni la pacienţi cu dureri lombare cronice nespecifice şi osteoartrită. Pacienţii au fost monitorizaţi la intervale de 4-6 săptămâni prin evaluarea unor parametri specifici bolii. Totodată pacienţii au fost chestionaţi asupra frecvenţei crizelor dureroase şi asupra necesităţii unei medicaţii suplimentare. 75% dintre pacienţi au apreciat tratamentul cu Doloteffin® ca fiind bun sau foarte bun, lipsit de efecte adverse (Chrubasik S, Chrubasik C, Künzel O, Black A. Patient-perceived benefit during one year of treatment with Doloteffin®. *Phytomedicine* 2007; 14 (6): 371-376).

Anca Miron

RELAXING EFFECTS OF ADRENOMEDULLIN IN RAT MESENTERIC RESISTANCE ARTERIES

Ionela Lăcrămioara Şerban, D.N. Şerban, I. Haulică
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
Department of Physiology

RELAXING EFFECTS OF ADRENOMEDULLIN IN RAT MESENTERIC RESISTANCE ARTERIES (Abstract): Exogenous adrenomedullin (ADM) is hypotensive in very small doses, through direct vasodilation of resistance arteries. In different teritorries this is variably mediated by ADM and CGRP receptors. Mechanisms involve ADM effects upon smooth muscle to increase cAMP and to activate K^+ channels, plus stimulation of endothelial NO release and inhibition of sympathetic noradrenalin release. **Aim**: We studied the mechanism of the vasodilator effect of ADM in vitro. **Method**: Rat mesenteric resistance arteries (RMRA) in isometric conditions, were stimulated using four contracting agents: K^+ 40 μM, phenylephrine 10 mM, $PGF_2\alpha$ 10 μM, angiotensin II 1 μM. We used methylene blue 10 μM to examine the involvement of soluble guanylate cyclase (GC) in the relaxation induced by ADM. **Results**: We found that relaxation induced by ADM is endothelium-independent, similar regardless of the contracting agent (including high K^+), and partially sensitive to methylene blue. **Conclusions**: K^+ channel activation by ADM is not essential for relaxation. Opposite to other authors, we suggest that ADM-induced vasodilation may involve endothelium-independent activation of soluble GC. **Key words**: RESISTANCE ARTERIES, SMOOTH MUSCLE, ADRENOMEDULLIN, GUANYLATE CYCLASE

Exogenous adrenomedullin (ADM) has hypotensive effects in nanomolar concentrations, close to the circulating levels of endogenous ADM. This effect is based on the decrease of peripheral resistance, and the relaxing effect of ADM in isolated small arteries occurs for the same low concentrations. ADM action is strong especially in vascular territories where endogenous ADM synthesis is intense (e.g. mesenteric bed), which can be a major source of circulating ADM (1), as well as an adequate target area for the autocrine action of ADM. A direct action of ADM on vascular muscle cells has been described, involving the increase of intracellular cAMP, as well as an effect on endothelial cells with a subsequent NO release (2). cAMP is an overall intracellular vasodilatory signal, proven to be used by ADM in the vasodilation of dog cerebral arteries. The effect is mediated by receptors for the calcitonin-gene related peptide (CGRP), positively correlated with adenyl cyclase, and is not affected by the inhibition of nitric oxide synthetase (NOS) or cyclooxygenase (COX) (3). The necessary ADM concentrations for the increase of cAMP in vascular smooth muscle cells are similar to those which induce vasodilation (4). Even so, the involvement of other signaling pathways, such as cGMP and/or K^+ channel activation (5,6), namely ATP-dependent (K_{ATP}) and calcium dependent (K_{Ca}), cannot be excluded. In different vascular territories the relaxing effect of ADM is mediated to a variable extent by specific ADM receptors, as well as by those for CGRP.

In rat mesenteric resistance arteries (RMRA), ADM-induced relaxation seems to be mediated by CGRP receptors, while nano-molar levels of ADM can limit CGRP-mediated neurogenic relaxation (7) through the inhibition of CGRP release, mediated by pre-synaptic non-CGRP receptors. Moreover, part of the ADM hypotensive effect is secondary to an inhibition of noradrenalin release from post-ganglionary sympathetic nerve endings. In the dog mesenteric bed this effect is mediated by specific pre-synaptic ADM receptors, while direct relaxation is ensured by the CGRP receptors in the smooth muscle cell (8). Interestingly, in dogs ADM relaxes contractions of the mesenteric arteries induced by $PGF_{2\alpha}$, but not those induced by exogenous norepinephrine. We investigated the relaxing effect of ADM in RMRA in isometric conditions, using four distinct pre-contracting agents, in the presence and absence of a functional endothelium and we also examined the possible role of guanylate cyclase (GC) in this context

MATERIALS AND METHODS

Experiments were performed by isometric myography, using rings from small mesenteric arteries (~2 mm length, ~0.1 mm diameter) from male Wistar rats (180-220 g). The endothelium can be removed by repeated passage of a rough hair through the vessel. The physiological saline solution contained (mM): NaCl 118; KCl 4.7; $CaCl_2$ 2.52; $MgSO_4$ 1.64; $NaHCO_3$ 24.88; KH_2PO_4 1.18; glucose 5.55. It was bubbled with 95% O_2 + 5% CO_2, and kept at 37° C; pH 7.2-7.4. The salts were of analytical grade and all the other substances were of research grade (Sigma). The rings were equilibrated for 60' under a resting tension of 1 g. Force was recorded digitally (WPI converter) and processed off-line (Origin Microcal). All relaxing effects are expressed as mean ± SEM; n=4 in all series. Statistical significance was assesed by the t-test for grouped data. The relaxing effect of human ADM was expressed as residual active force, % of the reference values represented by the pre-contraction plateau (5'), induced by K^+ 40 mM (K40), phenylephrine 10 mM (PHE), or $PGF_{2\alpha}$ 10 μM (PGF) in the same ring. ADM pre-treatment was applied in the case of 1 μM angiotensin II (ANG) and the reference was peak active force in absence of ADM. Methylene blue 10 μM (MB) was used as pre-treatment (10') and maintained thereafter.

RESULTS AND DISCUSSION

ADM relaxes the contractions induced by K40, PHE and PGF in a similar manner and inhibits the contraction induced by ANG (fig. 1, 2). These are endothelium-independent effects (fig. 2), but they are decreased by MB (fig. 3), proving the ability of ADM to act directly at the muscular level and suggesting a mechanism that could involve ADM induced endothelium-independent activation of soluble GC in the smooth muscle cell. There is wide evidence regarding the endothelium-dependent component of ADM induced vasodilation, as well as the ability of ADM to stimulate endothelial NO synthesis. We compared the relaxation produced by ADM in RMRA in the presence in and the absence of functional endothelium and observed that the effects are similar in the two situations (fig. 2). Present data confirm previous observations regarding the endothelium-independent vasodilation effect of ADM in the rat mesenterial circulation (9).

The relaxing effect of ADM has been previously studied by other authors using isolated RMRA, but these studies were focused on the effects of amylin and CGRP

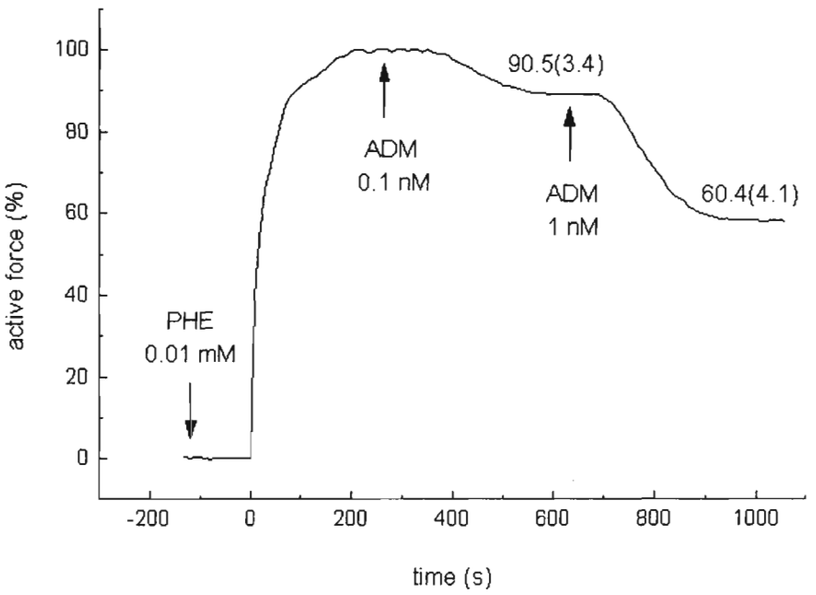


Fig. 1. Relaxing effect of adrenomedullin (ADM) in rat mesenteric resistance arteries in isometric conditions. The vascular ring was pre-contracted with phenylephrine (PHE) and two cumulated ADM concentrations were applied. Results are expressed as % of the pre-contraction level and the average values (SEM) are not distinct for vascular rings with intact endothelium ($p > 0.1$; $n = 4$)

(10), or on the pre-synaptic effect of ADM (7), rather than on the ADM vasodilation mechanism. Other studies used the experimental model of the rat mesenteric territory, and proved the involvement of CGRP receptors in the ADM effect, regardless if it is induced by the rat peptide (9) or the human one (11). Nevertheless, neither the CGRP receptors nor the amylin ones were involved in human ADM induced relaxation in isolated RMRA (10). In these vessels ADM 10^{-7} M triggers hyperpolarization through K_{ATP} activation (6), without affecting junctional activation potentials. In smooth muscle cells of the rat mesenteric artery, ADM (10^{-11}-10^{-7} M) activates an internal rectifying current, an effect that is not mediated by K_{Ca}, but seems to be dependent on both K_{ATP} and CGRP1 receptors (12).

However, a direct correlation between the hyperpolarization-dependent K^+ efflux and relaxation has not been established by either of the cited studies. Moreover, another research, conducted on the same arteries, showed that ADM induced vasodilation is not altered by specific K_{ATP} channel blockers (10), as opposed to the cerebral circulation (5), where CGRP1 receptor activation by ADM triggers vasodilation involving both K_{ATP} and K_{Ca}. Thus, the mechanism of smooth muscle relaxation by ADM in SRMA has not been elucidated, and the existing results are often hard to reconcile.

Our results show that in RMRA the relaxation induced by human ADM is similar for the four different pre-contracting agents (fig. 2, 3). Nano-molar ADM antagonizes the contraction induced by activation of á1-adrenoceptors in the rat mesenteric circulation, acting via CGRP receptors (11), while the inhibitory effect on PGF induced contraction was revealed in dog mesenteric arteries. Both aspects are confirmed by our results.

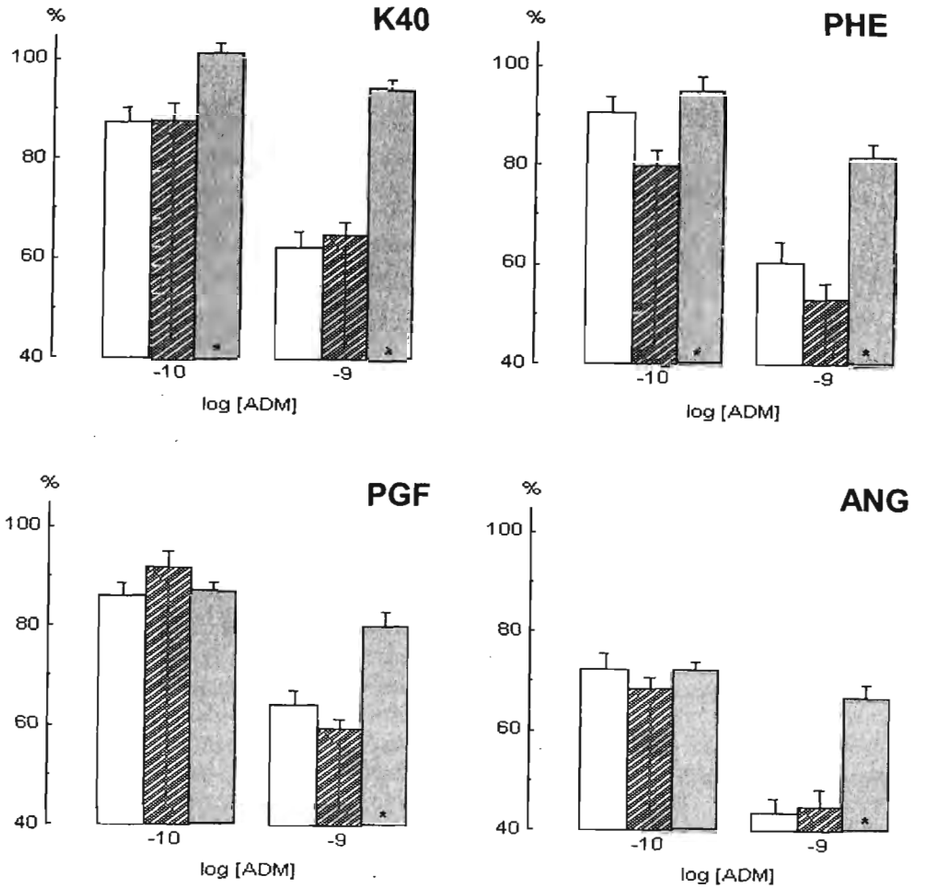


Fig. 2. The inhibitory effect of adrenomedullin (ADM ; 10^{-10} and 10^{-9} M) in rat small mesenterial arteries stimulated with K 40 mM (K40), phenylephrine 10^{-5} M (PHE), prostaglandin $F_{2\alpha}$ 10^{-5} M (PGF), or angiotensin II 10^{-6} M (ANG) is not different in the presence (white columns) or absence (hatched columns) of the endothelium, and is overall inhibited by methylene blue (grey columns) in de-endothelized vessels ($p < 0.01$)

In dog coronary circulation a particular relation was observed between the vasodilator effect of ADM and K_{ATP} activation by adenosine receptors, without CGRP receptors being involved (13). The mentioned synergism was later extended to the entire rat peripheral circulation (12). Despite this fact, the involvement of K^+ channels in the relaxation of RMRA in response to ADM is questionable.

This article presents the first evidence that human ADM is capable of similarly relaxing contractions induced by high K^+ concentrations in this territory, therefore activation of the various K^+ channels is not indispensable for the relaxing effect of ADM. Finally, we observed that ADM similarly inhibits the ANG induced contraction,

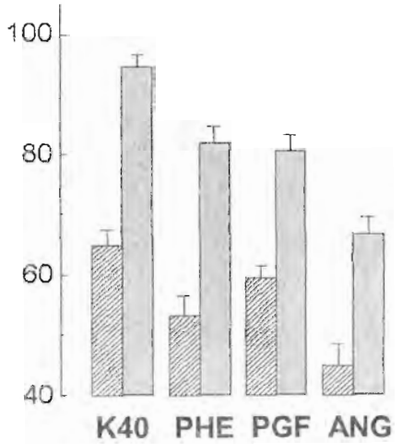


Fig. 3. The inhibitory effect of adrenomedullin (ADM; 10^{-9} M, hatched) in rat small de-endothelized mesenteric arteries stimulated with K 40 mM (K40), phenylephrine 10^{-5} M (PHE), prostaglandin $F_{2\alpha}$ 10^{-5} M (PGF), or angiotensin II 10^{-6} M (ANG) is not different according to its sensitivity to inhibition of guanylate cyclase with methylene blue (grey)

an interaction which we have previously examined in a comparative study between rat aorta and RMRA (14).

GC is a recognized effector of NO, and ADM is able to trigger the release of NO from the endothelium, the NO-cGMP pathway being involved in the mechanisms of ADM induced vascular relaxation, at least in rat aorta and renal arteries (15). Our results suggest that endothelium-independent relaxation secondary to ADM action involves soluble GC. This aspect has not been previously reported, and the involvement of soluble GC was excluded by a study conducted on dog central retinal artery using MB (16) and by another one conducted on RMRA and using a more specific inhibitor (10). However, the activation of CGRP can lead to vasodilation mediated by cGMP and NO-independent, as observed in the uterine circulation of pregnant female rats (17).

Either way, an increase in cGMP could allow similar inhibition by ADM of the contraction induced by different agents, as we report here (fig. 2, 3) and could involve calcium de-sensitization, as well as a limitation of cytosolic calcium increase, as shown for the ADM effect in pig coronary arteries (18). The inhibition of cytosolic calcium increase can include the reduction of voltage-dependent calcium influx via hyperpolarization due to K^+ efflux.

An endothelium-independent relaxation secondary to ADM action occurs in dog retina arteries as well, mostly mediated by an increase in cAMP secondary to the stimulation of CGRP1 receptors and in part by cGMP, but in this territory cGMP is less likely to be produced by MB-sensitive soluble GC, while prostanoids, NO and the opening of K_{ATP} do not seem to be involved in the relaxation induced by ADM (16). On the other hand, in human coronary arterioles (19), ADM produces vasodilation by activating ADM specific receptors, in part through NO synthesis and in part by activating K^+ channels, with a small contribution from adenyl cyclase and rather independent from the traditional pathway involvng activation of the soluble GC.

Activation of GC through an increase in NO release secondary to ADM action in intact vessels is well documented in various studies, but our data suggest that ADM could also trigger an endothelium-independent activation of the soluble GC in vascular myocytes.

CONCLUSION

The relaxing effect of ADM in RMRA is endothelium-independent and similar for different pre-contracting agents, including high extracellular K^+, and could involve the endothelium-independent activation of soluble GC in the smooth muscle.

REFERENCES

1. Hwang IS, Tang F. Peripheral distribution and gene expression of adrenomedullin in the rat: possible source of blood adrenomedullin. *Neuropeptides* 2000; 34: 32-37.
2. Shimekake Y, Nagata K, Ohta S, et al. Adrenomedullin stimulates two signal transduction pathways, cAMP accumulation and Ca^{2+} mobilization, in bovine aortic endothelial cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 4412-4417.
3. Baskaya MK, Suzuki Y, Anzai M, et al. Effects of adrenomedullin, calcitonin gene-related peptide, and amylin on cerebral circulation in dogs. *J Cereb Blood Flow Metab* 1995; 15: 827-834.
4. Ishizaka Y, Ishizaka Y, Tanaka M, et al. Adrenomedullin stimulates cyclic AMP formation in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 200: 642-646.
5. Lang MG, Paterno R, Faraci FM, Heistad DD. Mechanisms of adrenomedullin-induced dilatation of cerebral arterioles. *Stroke* 1997; 28: 181-185.
6. Goto K, Fujii K, Onaka U, Abe I, Fujishima M. Effects of adrenomedullin and PAMP on membrane potential and neurotransmission. *Peptides* 2000; 21: 257-263.
7. Akiyama S, Kawasaki H, Shimogai A, Kurosaki Y. Adrenomedullin inhibits neurotransmission of calcitonin gene-related peptide (CGRP)-containing vasodilator nerves in rat mesenteric resistance arteries. *Peptides* 2001; 22: 1887-1893.
8. Fujioka H, Okamura T, Toda N. Inhibition by adrenomedullin of amine release from adrenergic nerves in dog mesenteric arteries. *Eur J Pharmacol* 1999; 385: 155-161.
9. Berthiaume N, Claing A, Lippton H, Cadieux A, D'Orleans-Juste P. Rat adrenomedullin induces a selective arterial vasodilation via CGRP1 receptors in the double-perfused mesenteric bed of the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1995; 73: 1080-1083.
10. Champion HC, Pierce RL, Bivalacqua TJ, Murphy WA, Coy DH, Kadowitz PJ. Analysis of responses to hAmylin, hCGRP, and hADM in isolated resistance arteries from the mesenteric vascular bed of the rat. *Peptides* 2001; 22: 1427-1434.
11. Nuki C, Kawasaki H, Kitamura K, et al. Vasodilator effect of adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in rat mesenteric vascular beds. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 196: 245-251.
12. Sakai K, Saito K, Ishizuka N. Adrenomedullin synergistically interacts with endogenous vasodilators in rats: a possible role of K_{ATP} channels. *Eur J Pharmacol* 1998; 359: 151-159.
13. Sabates BL, Pigott JD, Choe EU, et al. Adrenomedullin mediates coronary vasodilation through adenosine receptors and K_{ATP} channels. *J Surg Res* 1997; 67: 163-168
14. Haulica I, Bild W, Mihaila C, et al. Comparative study of the ingibitory effects of adrenomedullin on angiotensin II contraction in rat conductance and resistance arteries. *J Renin Angiotens Aldoster Syst* 2004; 5: 79-83.
15. Hayakawa H, Hirata Y, Kakoki M, et al. Role of nitric oxide-cGMP pathway in adrenomedullin-induced vasodilation in the rat. *Hypertension* 1999; 33: 689-693.
16. Okamura T, Ayajiki K, Kangawa K, Toda N. Mechanism of adrenomedullin-induced relaxation in isolated canine retinal arteries. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 56-61.
17. Vedernikov YP, Fulep EE, Saade GR, Garfield RE. Calcitonin gene-related peptide dilates the pregnant rat uterine vascular bed via guanylate cyclase, ATP- and Ca-sensitive potassium channels and gap junctions. *Curr Med Res Opin* 2002; 18: 465-470.
18. Kureishi Y, Kobayashi S, Nishimura J, Nakano T, Kanaide H. Adrenomedullin decreases both cytosolic Ca^{2+} concentration and Ca^{2+}-sensitivity in pig coronary arterial smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 21: 572 579.
19. Terata K, Miura H, Liu Y, Loberiza F, Gutterman DD. Human coronary arteriolar dilation to adrenomedullin: role of nitric oxide and K^+ channels. *Am J Physiol* 2000; 279: H2620-H2626.

T_h1 AND T_h2 CYTOKINE RESPONSE IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS AND HEALTH CARE WORKERS OCCUPATIONALY EXPOSED TO *M. TUBERCULOSIS*

Carmen Cozmei[1], Daniela Constantinescu[1], E. Carasevici[2,3], Ecaterina Anisie[3], Didona Ungureanu[3,4], Adriana Sorete-Arbore[5], Doina Gramadă[5], Tr. Mihăescu[5, 6], Carmen Croitoru[1], Doina Popa[1]

Institute of Public Health Iaşi
1 Department of Occupational Medicine
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
2 Department of Immunology
4 Department of Biochemistry
6 Department of Pneumology
"St. Spiridon" Emergency Hospital Iaşi
3 Laboratory of Immunology and Genetics
5 Clinical Hospital of Pneumology Iaşi

T_h1 AND T_h2 CYTOKINE RESPONSE IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS AND HEALTH CARE WORKERS OCCUPATIONALY EXPOSED TO *M. TUBERCULOSIS* (Abstract): Aiming to detect reliable markers indicating protection from or susceptibility to tuberculosis infection, we investigated both T_h1/T_h2 cytokines and total IgE plasma levels in health care workers occupationally exposed to *M. tuberculosis*, in patients with pulmonary tuberculosis and in healthy persons. **Material and method**: The study groups have included 15 health care workers in close contact with TB patients, patients with active pulmonary tuberculosis at diagnosis and after treatment (12 advanced and 10 moderate TB, of which 6 had also pleurisy) and 20 healthy volunteers. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were stimulated with PPD for 7 days and the release of six cytokines (IL-2, IFNγ, TNFα, IL-4, IL-5, IL-10) was simultaneously quantified by cytometric bead array (CBA) in culture supernatants. The same method was used to determine the cytokine level in plasma and pleural effusions from TB patients. Six neoplastic pleurisies were included in this investigation as a control group. Total plasma IgE level was measured by chemiluminescence technique. **Results**: Plasma and pleural fluid cytokine analysis at the outset of tuberculosis disease reflect the same T_h1 response dominated by IFNγ. In opposition, very low IFNγ levels were recorded in neoplastic pleural fluids. Both types of cytokines (T_h1 and T_h2) were secreted in response to *in vitro* PPD stimulation of PBMCs and had different evolution in moderate and advanced TB. Thus, IFNγ, TNFα, IL-4, and IL5 production after 6 months-treatment decreased in moderate TB and increased in severe disease ($p < 0.05$). Moreover, total IgE plasma levels were higher than the normal value (87 IU/ml) in health care workers and significant amounts were recorded in patients, especially in advanced TB after 6 months of treatment ($p = 0.00$). **Conclusions**: Our results confirm that the quantification of IFNă could be a good marker for the diagnosis of TB pleural effusions but raised the question whether plasma IgE levels might be a reliable marker indicating the transition to disease. Further studies are needed to understand the complex interaction between pro- and anti-inflammatory cytokines that might play an important role in the development of tuberculosis. **Key words**: TUBERCULOSIS, CYTOKINES, HEALTH CARE WORKERS

Despite the impressive headway made in understanding human host immunity in tuberculosis there are still difficulties in controlling and bringing down tuberculosis incidence. One third of the world's population is infected with *M. tuberculosis* (1) and the interaction between the bacillus and the components of the human immune system determines the outcome of the disease.

It is generally accepted that the cellular immune response plays the main role in the defense against *M. tuberculosis* (2) while the humoral immunity seems to be cast in a less important part in this process, despite the fact that certain studies demonstrated the existence of antibodies to mycobacterial proteins and to cell-wall components (including IgE) (3). The development of *M. tuberculosis* infection toward latency or acute disease seems to be a phenomenon governed by the cell-cell interaction as well as by cytokine signaling. Cytokines, which are low molecular weight proteins, are secreted by cells in response to different stimuli and play a significant role in the expansion and differentiation of antigen-specific T lymphocytes (4). Macrophages infected with *M. tuberculosis* release interleukins (5) that stimulate mostly CD4 lymphocytes which in turn release IFNγ (Th1 cells), and the presence of this cytokine is essential to control *M. tuberculosis* infection (6). T lymphocytes are divided into two subsets based on the cytokines they produce. Th1 subset mainly produces IL-2, which stimulates T cells proliferation, and it also releases IFNγ and TNFα, both of which are major activators of macrophages; the Th2 subset secretes IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 which down-regulate the Th1 response and stimulate B cells to produce antibodies (7). It is interesting that, apart from studies describing the presence of IgG antibodies (8), there are also papers reporting increased total IgE antibodies in TB patients before treatment (9) and even the presence of specific IgE to different *M. tuberculosis* antigens (10).

There are researches focused on Th1/Th2 cytokines production in active tuberculosis that have obtained contradictory results showing increased (11) or decreased (12) levels of cytokines in serum or culture supernatants of antigen-stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMC). Developing countries have a high incidence of tuberculosis, and one of the highest incidences of tuberculosis in Europe was registered in Romania: 134.6 cases per 100 000 inhabitants in 2004 (13). Literature data suggest that people in these countries have an important Th2-type immune background that prevents a protective Th1 response of the host against *Mycobacterium tuberculosis* (14).

Hoping to contribute to the understanding of the protective immune responses in *M. tuberculosis* infection we investigated plasma total IgE levels as well as cytokines secretion in plasma, pleural fluid and culture supernatants of PPD-stimulated mononuclear cells obtained from patients with tuberculosis, health care workers carrying out their duties among TB patients and healthy persons.

MATERIALS AND METHODS

Study groups. The study was performed on: a) 15 persons occupationally exposed to *M. tuberculosis* (nurses in contact with TB patients), aged between 25 and 55, with no clinical history of tuberculosis; b) 22 patients with active pulmonary tuberculosis, aged between 20 and 55, admitted to the Clinical Hospital of Pneumology from Iasi; c) 20 healthy volunteers, aged between 22 and 50, with no clinical history of tuberculosis, and 6 patients with neoplastic pleurisies were included in the study as controls.

Patients were studied before the initiation of antituberculous treatment and after

completion of tuberculosis therapy (6 months). Diagnosis of tuberculosis was established after considering the clinical status, chest X-ray and positive sputum culture. According to their chest x-ray, 10 patients had moderate TB (infiltrates occupying less than the equivalent in volume of a lung; confluent lesions which do not exceed the equivalent in volume of a third of one lung; cavities with a total diameter smaller than 4 cm) and 12 had advanced TB (lesions more extensive than those identified in the moderate disease cases). Six of the patients with moderate TB had also pleurisy.

The tuberculin skin test (TST) was performed with 2 units of PPD IC65, produced by the Cantacuzino Institute from Bucureşti, which is bioequivalent to the internationally recognized PPD RT23 produced by the Danish Statens Serum Institute from Copenhagen.

The TST was positive (over 10 mm skin indurations) for six of the patients with moderate TB and for eight of the advanced TB patients before treatment. Exposed and healthy persons were all positive for TST.

At the time of first blood collection, none of the patients had received chemotherapy or corticotherapy.

All subjects included in this study have been inoculated with BCG vaccine during childhood as confirmed by the skin scar and all of them had a negative human immunodeficiency virus serologic test. Stool samples were collected and tested for the presence of parasites and only individuals uninfected with intestinal parasites were included in the study.

Informed consent was obtained from each subject and the Ethical Committee of the Clinical Hospital of Pneumology approved the study.

Cells isolation and culture conditions. Twenty-five to forty ml of venous blood were collected in heparinized syringe and processed for mononuclear cells isolation (PBMC) by density gradient sedimentation over Ficoll-Hystopaque. Cell viability was constantly over 95% as tested by trypan blue dye exclusion test. 10^6 cells/ml were incubated with medium alone or with 20 µg/ml PPD free of preservatives for 7 days in 24-well plates (Nunc, Denmark) at 37°C, in humid atmosphere, with 5% CO_2 in RPMI 1640 supplemented with antibiotics and 5% autologous plasma. On the 7th day of culture, supernatants were collected and stored at -70° C, along with plasma and pleural fluid samples, for further analysis of secreted cytokines.

IgE quantification. Total plasma IgE level was quantified by chemiluminiscence, an immunometric assay that used Immulite Total IgE DPC (Diagnostic Product Corporation) reagents and an IMMULITE analyzer.

Detection of cytokines with cytometric bead array (CBA) immunoassay. The plasma and supernatants levels of Th1 (IL-2, IFNă, TNFá) and Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-10) were quantified simultaneously using a Cytometric Bead Array Human Th1/Th2 Cytokine CBA Kit (Becton Dickinson, USA) and the CBA software (Pharmingen, USA).

Fifty microliters of samples (plasma, supernatants) and standard cytokines were added to a mixture of microbeads with 6 different intrinsic fluorescence intensities (FL-3), pre-coated with antibodies specific for each cytokine that captured the secreted cytokines. The mixtures were incubated for 3 hours with PE-conjugated antibodies against the captured cytokines, and then they were washed and analyzed on a FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson). Cytokines concentrations were indicated by their FL-2 fluorescence intensities converted in pg/ml by the CBA software.

Statistical analysis. Data processing was performed using SPSS v12 statistical analysis program. Average values were compared using specific tests for normal distribution series and non-parametrical tests when distribution was not normal.

When Bartlett test confirmed a significant difference between the dispersions of the two data sets, Kruskal-Wallis (or Mann-Whitney/Wilcoxon) tests were used to compare interest variable averages for the studied groups. *t* test results were considered when no significant difference was noted. A p value of <0.05 was considered significant.

RESULTS

Cytokines detection in plasma and pleural fluids.

Data are presented in table I as mean values/group. It was noticed that the highest concentration of IFNg was measured in TB pleural fluid, much more than that recorded in plasma or in neoplastic pleurisies.

Plasma levels of IFNγ in patients were higher than that recorded in controls and exposed people, but differences were not statistical significant. However, the level of IFNă significantly increased after 6 months of treatment in advanced TB as compared to health care workers and controls ($p<0.05$), while in moderate TB the plasmatic concentration of IFNγ decreased at the end of the chemotherapy.

The other Th1-like cytokine, TNFα, had significantly lower plasma levels in moderate TB compared to controls ($p = 0.00$ at diagnosis and $p = 0.038$ after treatment). Significantly higher levels of TNFα were recorded in advanced TB ($p = 0.03$ at diagnosis and $p = 0.00$ after treatment) compared to moderate TB before treatment but comparing with controls differences were not significant.

An interesting evolution of the plasmatic Th2-like cytokines was recorded, especially the levels of IL-5 that were significantly higher in advanced TB after 6 months of treatment comparing to controls ($p = 0.00$), exposed ($p = 0.00$), and moderate TB ($p = 0.00$ at diagnosis and $p = 0.00$ after treatment) and comparing to levels recorded before treatment ($p = 0.02$). There were no differences between groups concerning the plasmatic levels of IL-10 but high concentrations of IL10, IL5 and IL4 were detected

TABLE I

Mean concentrations of cytokines in plasma and pleural fluid*

		TB		IFNγ	TNFα	IL10	IL5	IL4	IL2
Controls (n = 20)	Plasma			5.1	2.8	3.8	2.2	5.1	3.9
Exposed (n = 15)	Plasma			3.8	1.9	3.9	2.5	3.9	2.8
Patients	Plasma	Advanced TB (n = 12)	Pre-treatment	23.6	2.3	3.2	2.9	4.5	2.8
			Post-treatment	48.0	2.5	3.5	4.2	3.8	3
		Moderate TB (n = 10)	Pre-treatment	24.3	1.5	3.2	2.5	3.7	2.9
			Post-treatment	1.4	2.0	3.4	1.4	2.3	2.9
	Pleural fluid	TB Pleurisy (n = 6)		6452	9.1	24.3	745.5	24.6	13.1
		Neoplastic Pleurisy (n = 6)		5.5	2.2	17.7	27.2	2.5	3.2

* values are expressed as pg/ml

in TB pleural fluids.

Cytokines detection in supernatants.

The highest concentration of IFNă was measured in culture supernatants of occupationally exposed people and the lowest in advanced TB at the end of the treatment ($p = 0.03$) (fig. 1).

Healthy individuals had higher levels of IFNγ than patients whether they were at diagnosis or after treatment but the differences were not statistically significant. Conversely, TNFα concentrations were lower in exposed and control groups than in patients, especially in advanced TB ($p = 0.00$) (fig. 1). Significant amounts of IL-4 and IL-5 (Th2-like cytokines) were recorded in patients with advanced tuberculosis after 6 months of treatment ($p = 0.00$) (fig. 1). Whatever pro- or anti-inflammatory cytokines measured in patients' supernatants they increased at the end of the chemotherapy in advanced TB while in moderate tuberculosis they decreased (fig. 1). There was a notable exception: IL-10 decreased dramatically in advanced TB after therapy (fig. 2).

Plasma IgE quantification.

Total IgE plasma levels were higher than the normal value (87 IU/ml) in health care workers and significant amounts were recorded in patients, especially in advanced TB after 6 months of treatment ($p = 0.00$) (fig. 3).

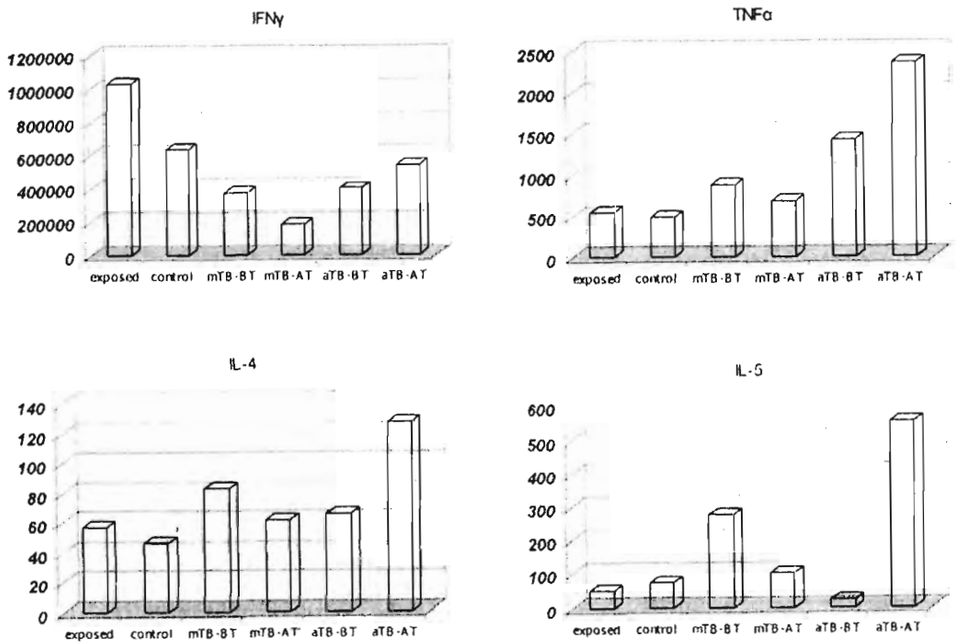


Fig. 1. Cytokines concentrations in supernatans of PBMC cultured with 20 μg/ml PPD for 7 days: mTB-BT = moderate TB before treatment; mTB-AT = moderate TB after treatment; aTB-BT = advanced TB before treatment; aTB-AT = advanced TB after treatment

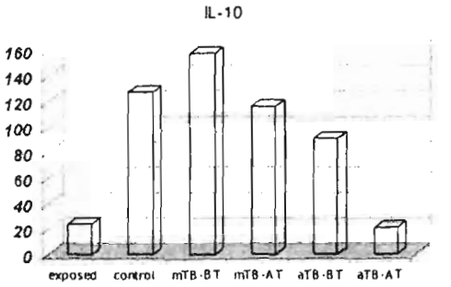


Fig. 2. IL-10 cytokine concentrations in supernatants of PBMC cultured with 20 μg/ml PPD for 7 days: mTB-BT = moderate TB before treatment; mTB-AT = moderate TB after treatment; aTB-BT = advanced TB before treatment; aTB-AT = advanced TB after treatment

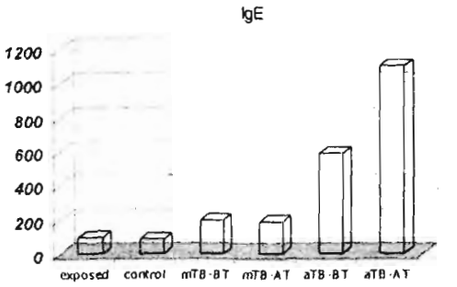


Fig. 3. Total plasma IgE concentrations: mTB-BT = moderate TB before treatment; mTB-AT = moderate TB after treatment; aTB-BT = advanced TB before treatment; aTB-AT = advanced TB after treatment

DISCUSSION

Although the exact mechanism of protection against *M. tuberculosis* is still unknown (6) it is generally accepted that an efficient immune response to *Mycobacterium tuberculosis* as an intra-cellular pathogen is associated with Th1 differentiation and IFNγ production (15) while the Th2-like cytokines involvement is still unclear. It was suggested that the Th1/Th2 balance could influence the development of *M. tuberculosis* infection toward latency or acute disease, more precisely that a predominance of IL-4 (a Th2 marker) would lead to active tuberculosis (16). It was shown that health care workers whose CD8+ T cells made IL-4 in response to *M. tuberculosis* went on to develop active disease within 2 - 4 years (17).

Our results showed the presence of both types of cytokines (Th1- and Th2-like) in TB pleural fluid as well as in the plasma and culture supernatants of the PPD-stimulated mononuclear cells obtained from patients, health-care workers and healthy persons.

Significantly raised plasma levels of IFNγ were recorded in patients with severe disease after 6 months of treatment. The same evolution of IFNγ was noticed in culture supernatants of the patients' stimulated PBMC. This situation could indicate that severe local inflammatory response, with high production of cytokine that diffuse into the bloodstream, needs much longer to be solved, since in moderate TB the plasma IFNγ decreased after 6 months of treatment. The dramatic decrease of IL-10 in culture supernatants of advanced TB at the end of specific treatment represents a notable exception. It is very difficult to explain this behavior but taking into account the raised level of IL-10 in TB pleural effusion, we could speculate that specific effectors producing IL-10 were accumulated at the site of inflammation as a regulatory component of the inflammatory process. High levels of Th2 cytokines were recorded at the end of the treatment in the same patients with a very surprising significantly higher level of IL-5 cytokine. Moreover, raised amounts of total plasma IgE antibodies (Th2 markers) were quantified in TB patients and slightly higher levels of IgE were recorded in health care workers who are in close contact with TB patients.

It has been reported that specific IgE

antibodies (Th2 markers) to *M. tuberculosis* antigens were present in 63-85% of TB patients (18) and that high concentrations of total IgE in patients before treatment decreased after successful treatment of TB (18,19) all these data pointing to the suggestion that a predominance of Th2 response leads to active tuberculosis (16,17). In contrast with the mentioned studies, we registered significantly increased total IgE plasma concentrations in advanced tuberculosis at the end of the treatment. In addition, health care workers did not develop active disease during the three-year study time interval. It is possible that an excess of inflammatory response, with a high level of Th1 cytokines induces a Th2 anti-inflammatory regulatory mechanism preventing extensive tissue injuries in patients as well as stopping the evolution towards active disease in health care workers.

Cytokine measurements in TB pleural fluid enabled us to obtain an image of the local immune response in tuberculosis. Thus, we found significantly higher IFNγ levels in the pleural fluid of patients compared with their plasma and with malignant pleural effusions, data that are in conformity with those mentioned by other researchers who have reported elevated IFNγ levels in TB pleurisies (20). This finding confirms the strong Th1 response in TB pleurisy (21) and supports the suggestion that pleural fluid concentration of IFNγ could be a good marker for the diagnosis of tuberculous pleuritis (22). We also found high concentrations of Th2 cytokines in pleural effusions (IL-5, IL-4, IL-10) meaning that a complex interaction between pro- and anti-inflammatory cytokines might play an important role in the development of pleural tuberculosis (23).

Further studies are needed to understand the importance of Th2 responses in the *M. tuberculosis* infection.

CONCLUSIONS

Using the results obtained during the plasma and pleural fluid cytokine analysis, we found that at the outset of the tuberculosis disease the Th1 response dominates and we confirm that a good marker for the diagnosis of TB pleurisies could be the quantification of IFNă in pleural effusions.

In addition, the results showed that in the population included in our study both types of cytokines (Th1 and Th2) are secreted in response to *in vitro* PPD stimulation. These cytokines have a different evolution in moderate TB, where they diminish following the administration of specific treatment, and in advanced TB where the cytokines increase after 6 months of chemotherapy. These findings suggest that there could be a relationship between distinct clinical manifestations and the production of Th1/Th2-like cytokines.

Further studies are needed to understand the complex interaction between pro- and anti-inflammatory cytokine that might play an important role in the development of tuberculosis.

The slightly higher level of plasma total IgE recorded in health care workers that are in close contact with TB patients raised the question whether plasma IgE levels could be a reliable marker indicating the transition to disease.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant (33353/2004) from the CNCSIS. We express our gratitude to Dr. Henriette Stavri from the Cantacuzino Institute of Bucharest who kindly provided us with the PPD.

REFERENCES

1. *** World Health Organization. *Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing*. WHO report 2006. Geneva, (WHO/HTM/TB/2006.362).
2. Hill AVS. The immunogenetics of human infectious diseases. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 593-617.
3. Avdiyenko VG, Kosmiadi GA, Bayenky AV et al. Tuberculosis IgE antibodies. I. Immunodominant antigens. *Probl Tuberk* 2002; 2: 30-33.
4. Ottenhoff THM, Spierings E, Nibbering PH, De Jong R, De Vries RRP. Immunology and immunopathology of mycobacterial infectious. In: Paradise LJ, Friedman H, Bendinelli M editors. *Opportunistic Intracellular Bacteria and Immunity*. New York/Boston/Dordrecht/London/Moscow: Kluwer Academic Press, 2002, 91-106.
5. Phillips MS, von Reyn CF. Nosocomial infectious due to nontuberculous mycobacteria. *Clin Infect Dis*. 2001; 33: 1363-1374.
6. Boom WH, Canaday DH, Fulton SA, Gehring AJ, Rojas RE, Torres M. Human immunity to *M. tuberculosis*: T cells subsets and antigen processing. *Tuberculosis* 2003; 88: 98-106.
7. Manabe YC, Dannenberg AM Jr. Pathophysiology: basic aspects. In: Schlossberg D. editor. *Tuberculosis & Nontuberculous Mycobacterial Infections*. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2006, 18-52.
8. Daniel TM, Boom WH, Ellner JJ. Immunology of tubeculosis. In: Reichman LB, Hershfield ES editors. *Tuberculosis, a comprehensive international approach*. 2nd ed. Marcel Dekker Inc, New York, 2000, 187-214.
9. Adams JF, Scholvinck EH, Gie RP, Potter PC, Beyers N, Beyers AD. Decline in total serum IgE after treatment for tuberculosis. *Lancet* 1999; 353: 2030-2033.
10. Yong A, Grange JM, Tee RD, Beck JS, Bothamley GH, Kemeny DM, Kardjito T. Total and anti-mycobacterial IgE levels in serum from patients with tuberculosis and leprosy. *Tubercle* 1989; 70(4): 273-279.
11. Surcel HM, Troye-Blomberg M, Paulie S et al. Th1/Th2 profiles in tuberculosis, based on the proliferation and cytokine response of blood lymphocytes to mycobacterial antigens. *Immunology* 1994; 81: 171-176.
12. Leinhardt C, Azzuri A, Amedei A et al. Active tuberculosis in Africa is associated with reduced Th1 and increase Th2 activity in vivo. *Eur J Immunol* 2002; 32: 1605-1613.
13. *** *Principalele boli infecţioase şi parazitare în România*. I: Anuar de Statistică Sanitară 2004, Ministerul Sănătăţii – Centrul de Calcul şi Statistică Sanitară Bucureşti, 2005, 62-71.
14. Rook GAW, Dheda K, Zumla A. Do successful tuberculosis vaccines need to be immunoregulatory rather than merely Th1-boosting? *Vaccine* 2005; 23: 2115-2120.
15. Kahnert A, Seiler P, Stein M et al. Alternative activation deprives macrophages of a coordinated defense program to *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur J Immunol* 2006: 36: 631-647.
16. Smith SM, Klein MR, Malin AS, Sillah J, AcAdam KPWJ, Dockrell HM. Decreased IFN-γ and increased IL-4 production by human CD8+ T cells in response to Micobacterium tuberculosis in tuberculosis patients. *Tuberculosis* 2002; 82 (1): 7-13.
17. Ordway DJ, Pinto L, Costa L et al. Gamma delta T cell responses associated with the development of tuberculosis in health care workers. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 43: 339-350.
18. Yong A, Grange JM, Tee RD et al. Total and anti-mycobacterial IgE levels in serum from patients with tuberculosis and leprosy. *Tubercle* 1989; 70: 273-279.
19. Adams JF, Scholvinck EH, Gie RP, Potter PC, Beyers N, Beyers AD. Decline in total serum IgE after treatment for tuberculosis. *Lancet* 1999; 353: 2030-33.
20. Sharma SK, Mitra DK, Balamurugan A, Pandey RM, Mehra NK. Cytokine polarization in miliary and pleural tuberculosis. *J Clin Immunol* 2002; 22: 345-352.
21. Okamoto M, Hasegawa Y, Hara T, Hashimoto N, Shimokata K, Kawabe T. T-helper type 1/T-helper type 2 balance in malignant pleural effusions compared to tuberculous pleural effusions. *Chest* 2005; 128: 4030-4035.
22. Aoe K, Hiraki A, Murakami T, Eda R, Maeda T, Sugi K, Takeyama H. Diagnostic significance of interferon-ă in tuberculous pleural effusions. *Chest* 2003; 123: 740-744.
23. Aoe K, Hiraki A, Murakami T et al. Relative abundance and patterns of correlation among six cytokines in pleural fluid measured by cytometric bead array. *Int J Mol Med* 2003; 12: 193-198.

A STROMAL MYOID CELL LINE PROVOKES THYMIC T-CELL IMMIGRATION AT THE SECOND AND THIRD GESTATIONAL TRIMESTERS

M. Lambropoulou[1], D. Tamiolakis[2], I. Venizelos[1], G. Alexiadis[1], V. Limberis[3], G. Galazios[3], P. Tsikouras[3], D. Karamanidis[4], G. Koutsougeras[4], S. Nikolaidou[2], G. Petrakis[1], Papadopoulos H[1], N. Papadopoulos[1]

Democritus University of Thrace Alexandroupolis

1 Department of Histology - Embryology

3 Department of Obstetrics & Gynecology

General Hospital of Chania Crete

2 Department of Cytology

Regional Hospital of Alexandroupolis

4 Department of Obstetrics & Gynecology

A STROMAL MYOID CELL LINE PROVOKES THYMIC T-CELL IMMIGRATION AT THE SECOND AND THIRD GESTATIONAL TRIMESTERS (Abstract): Once lymphoid precursors enter the thymus form the blood stream, they come into contact with thymic stromal cells that guide their maturation into funcionally competent T cells. Thymic myoid cells are one such cell type. They have been described as a regular constituent of the thymus of embryonic and young vertebrates and express muscle proteins including myosin, desmin, acetylcholine receptor (AChR), C-protein, MyoD, troponin T, rapsyn, and utrophin. It has been emphasized recently that the thymic myoid cells play an important role in the protection of thymocytes from apoptosis, and in the process of T-cell differentiation and maturation. **Aim**: To provide a quantitative estimation of thymic myoid cells and T-cell population in different stages of development. A probable interaction between these two populations could explain an additional mechanism to the active T-cell migration from the thymus that is a direct contact to a specific myoid cell line. **Materials and methods**: Paraffin-embedded specimens from the thymus of forty five human embryos at the first, second and third trimester of gestation respectively, were investigated by conventional histology, and immunohistology for the presence in the stroma of the thymic medulla, of myosin in the myoid cells, and UCHL1 (pan T- cell) antigen in the medullary thymocytes. **Results**: Our results demonstrated a quantitative difference in the second and third trimester of development concerning the expression of myosin in the stromal myoid cells of the thymic medulla over the equivalent expression of the protein in the first trimester. Similar changes in the above periods were found concerning the population of medullary thymocytes expressing UCHL1 antigen. **Conclusions**: Our results indicate that: 1) Thymic myoid cells play an important role in the thymic microenvironment as they are well conserved throughout species evolution. 2) The increased population of myoid cells in the medullary area during mid and late gestational age, in comparison with first trimester, probably reflects the increased demand of the growing fetus for mature T lymphocytes. Contractions of myoid cells mediated by their cytoplasmic structural proteins, including myosin which is well preserved during development, might aid the movement of thymocytes expressing UCHL1 antigen, across or out of the gland, suggesting a potential involvement of myoid cells in the thymic function. Further studies on larger series are needed to corroborate this. **Key words**: FETAL HUMAN THYMUS, PARAFFIN SECTIONS, UCHL1, THYMIC MYOID STROMAL CELLS, MYOSIN, GESTATIONAL AGE

Hemopoietic precursors are required to colonize the thymic microenvironment in order to efficiently generate T cells. Importantly, the site of production of T-cell precursors chances during ontogeny, such that the early fetal thymus is colonized by fetal liver-derived precursors, while the• postnatal thymus is colonized by precursors from the bone marrow (1,2). Several studies have now shown that fetal precursors are different from postnatal and adult precursors in a number of ways (3). The thymus is divided in two main compartments, cortex and medulla, containing epithelial cells (TEC). Analytical studies of clonal and highly purified thymic stromal components indicate that epithelial cells, including nurse cells, provide fundamental signals for many different steps of T cell maturation by producing hormones, humoral factors, and the necessary microenvironment for lymphocytes to learn to discriminate between self and non-self (4,5). Thus, thymic lymphocytes depend on the cellular and humoral environment of non lymphoid thymic compartments for full proliferation and maturation. Mesenchyme-derived fibroblasts are required for early T-cell development (6). Dendritic cells and macrophages are involved in the proper thymocyte differentiation and even in thymocyte survival (7,8).

Thymic myoid cells have been described as a regular constituent of the thymus of embryonic and young vertebrates (9), but the role and characteristics of these cells remain to be determined. These cells are situated mainly in the medulla and at the corticomedullar junction (10,11). They are large, rounded cells, with a central nucleus surrounded by irregularly arranged bundles of myofilaments. In lower vertebrates, where myoid cells are often more numerous, these cells are joined to neighboring medullary epithelial cells by desmosomes. Myoid cells share some characteristics with thymic epithelial cells (12) and it has been suggested that myoid cells may derive from myoepithelial cells within the thymus (13). Other reports have suggested that myoid cells come from pluripotent stem cells (14) or from endodermal reticular cells. It has also been postulated that they are of extrathymic origin, arising during embryogenesis from muscle precursor cells of the surrounding mesoderm (12). Experiments with chick/quail chimeras do not support the notion that myoid cells arise from transdifferentiation of thymic epithelial cells but are rather of neuroectodermal origin (15). Thymic myoid cells express several muscle-specific proteins including myosin, desmin (16), acetylcholine receptor (AChR) (16,17), C-protein, MyoD, troponin T, rapsyn, and utrophin. They have therefore the antigenic characteristics of the skeletal muscle cells within the thymus (18). Their biological role is unclear, but their involvement in human myasthenia gravis (MG) has been suggested (14). Van de velde and Friedman reported that myoid cells were present in thymus and in thymoma from both young and adult patients with MG (9).

Myosin is a contractile muscle specific protein composed of two heavy and four light chains. The myosin heavy chain has many isoforms which are specific for different muscles or fibre types, some of which are developmentally regulated. Smooth muscle myosin heavy chain (SM-MHC) is a cytoplasmic structural protein that is a major component of the contractile apparatus in smooth muscle cells. It has been reported to be specific for smooth muscle development.

As T-cell precursor maturation is a normal autonomous process, interactions with cells of the thymic microenvironment are required throughout T-cell development (1, 19,20). Thymic stromal cells represent a heterogeneous mixture of cell types including myoid cells. In particular, since there is evidence that myoid cells protect thymo-

cytes from apoptosis, influence thymocyte maturation and modulate their differentiation process (21), we focused our review to an additional functioning property of these cells that of the mechanism regulating the traffic across or out of the gland, of mature thymocytes.

MATERIALS AND METHODS

Tissue specimens

Paraffin-embedded specimens from the thymus of forty five human embryos coming from spontaneous abortions were drawn from the files of the Department of Histology and Embryology of the Democritus University of Thrace, Alexandroupolis, Greece. Fifteen embryos corresponded to the 8th to 12th gestational week (8 X 8th, 4 X 10th, 3 X 12th, week of gestation), fifteen to the 18th to 22th gestational week (8 X 18th, 4 X 19th, 2 X 21st, 1 X 22nd week of gestation) and fifteen to 28th to 30th gestational week (8 X 28th, 4 X 29th, 3 X 30th, week of gestation). Gestational age was estimated using developmental anatomical criteria. The study was conducted in harmony with guidelines for the analysis of fetal cells and tissues and was approved by the Regional Committees of Ethics. Written informed consent was obtained from all women, and the procedures followed were in accordance with the institutional guidelines.

Methods

Tissue sections from both lobes of the thymus for each case were prepared. For conventional histological analysis the sections were stained with haematoxylin and eosin (H&E). Tissue samples were processed for paraffin section immunophenotyping and stained using the monoclonal antibody against myosin (NCL-MHC-Sm, Clone S131) and UCHL1 (NCL-UCHL1) by Novocastra.

In brief, sections were dewaxed in xylene, and passed through graded alcohols to water. Endogenous peroxidase was blocked by methanol with 0.3% H_20_2 (30 min room temperature). Therafter, the sections were submerged in 0.01 mol/L citrate buffer (pH 6.0) and were boiled for 10 minutes in a microwave oven to retrieve the antibody antigenecity. After cooling to room temperature, they were incubated with the relevant antibodies, followed by biotinylated antibody against mouse immunoglobulin (Vector Laboratories, Burlingame, CA: 1 : 100 dilution). The sections were finally reacted with peroxidase-conjugated streptavidin (Nichirei, Tokyo, Japan), and the labeled peroxidase was visualized by the diaminobenzidine - H_20_2 method.

The immunostained sections were examined with a X 40 objective and the distribution of myosin and UCHL1within the cell was recorded. Every stained cell was scored as positive regardless of staining intensity. To count the number of cells with myosin and UCHL1 stainings, a 10 X 10 square calibrated grid was inserted into the eyepiece of an Olympus BX40 binocular microscope.

Five-to-ten fields were examined for each section, and at least 1000 cells were scored, depending on cellularity. The percentage of positive cells was recorded as the relevant indices.

$$\text{Myosin index} = \frac{no\ \ positive\ \ cells}{no\ \ total(positive + negative)cells}$$

$$\text{UCHL1 index} = \frac{no\ \ positive\ \ cells}{no\ \ total(positive + negative)cells}$$

The indices ranged from 0-100%, with a mean of 18%. The mean index was evaluated in three ranges: low index (under 18%), moderate index (from18 to 50%), and high index (from 51 to 100%).

RESULTS

The sections were examined independently by two observers, and positive cellular staining for myosin and UCHL1 antibodies were manifested as fine yellow cytoplasmic granularity and / or surface membrane expression.

Medullary stromal myoid cells expressed myosin in 7 of 15 fetuses-cases during the first trimester (45.56%) (33.76±1.56 cells/mm^2) (Fig. 1), in 8 of 15 cases during the second trimester (54.67%) (27.23±2.16 cells/mm^2) and in all 15 cases during the third trimester (100%) (48.25±3.36 cells/mm^2) (Fig. 2).

Medullary thymocytes expressed UCHL1in 10 of 15 fetuses-cases during the first trimester (68.64%) (54.32±2.38 cells/mm^2) (Fig. 3), in 13 of 15 cases during the second trimester (87.23%) (109.14±5.72 cells/mm^2) and in all 15 cases during the third trimester (100%) (62.82±3.28 cells/mm^2) (Fig. 4).

Our results demonstrated a statistically significant differenee in the second and third trimester of gestation concerning the expression of myosin in the stromal cells of the thymic medulla over the equivalent expression of the protein in the first ($p<0.0001$, t-test). Similar changes in the above period were found concerning the

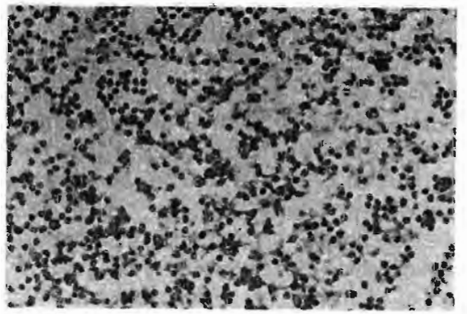


Fig. 1. Immunohistochemical control for myosin showing a mild reactivity in the stromal cells (myoid cells) of the thymic medulla. 8th to 12th week of gestation (immunostaining using APAAP technique; yellow labeled cells, X250)

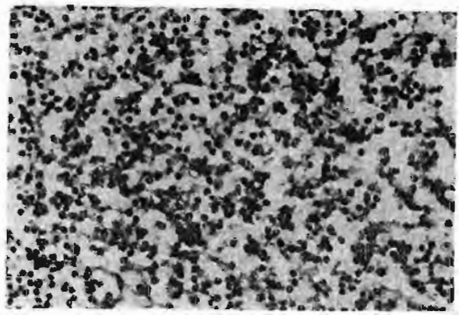


Fig. 2. Immunohistochemical control for myosin showing a strong reactivity in the stromal cells (myoid cells) of the thymic medulla. 28th to 30th week of gestation (immunostaining using APAAP technique; yellow labeled cells, X250)

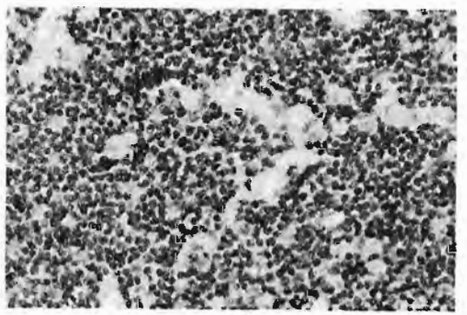


Fig. 3. Immunohistochemical control for UCHL1showing a mild reactivity with medullary thymocytes. 8th to 12th week of gestation (immunostaining using APAAP technique; yellow labeled cells, X250)

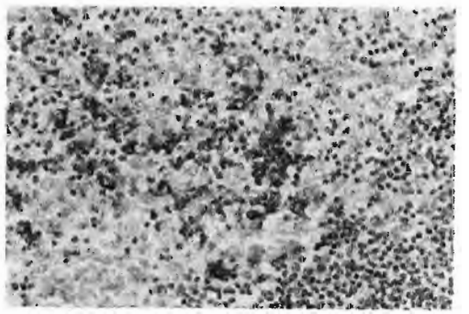


Fig. 4. Immunohistochemical control for UCHL1showing a strong reactivity with medullary thymocytes. 28th to 30th week of gestation (immunostaining using APAAP technique; yellow labeled cells, X250)

expression of UCHL1 over the first ($p < 0.0001$, t-test).

DISCUSSION

The thymus provides a complex environment essential for T-cell development. Differentiation of T cells occurs while they are progressing through the different thymus compartments. In that first differentiation steps, immature T-cell precursors become progressively double positive (DP) for CD4 and CD8 coreceptors and acquire a complete T-cell receptor (TCR). Further successful differentiation of thymocytes depends on the quality and the specificity of the interaction of their TCR with self-major histocompatibility complex (MHC). Only a few DP thymocytes pass successfully positive selection and are exported out of the thymus. The large majority of thymocytes die either because the TCR-MHC interaction is too weak (death by neglect) or, in contrast, because the TCR-MHC interaction is too strong (negative selection, self-tolerance). Positively selected DP thymocytes end up single positive (SP) cells for either CD4 or CD8 (lineage commitment): DP thymocytes expressing MHC class II specific TCR differentiate into CD4+ SP (T helper cells) whereas those expressing MHC class I specific TCR differentiate into CD8+ SP (T cytotoxic cells) (21,22,23,24).

The role of myoid cells has been explored by co-culturing the myoid cells with thymocytes. Interestingly, the myoid cell line appears to protect thymic cells from spontaneous apoptosis, while the human thymic epithelial cell line has no effect. The mechanism of the protective effect needs further investigation. It could be mediated by soluble factors or by direct cell contacts. The presence of the adhesion molecule LFA-3 (CD58) on myoid immortalized thymic cells (MITC) (10) makes possible interactions between myoid cells and most thymocytes that constitutively express CD2. Indeed LFA-3 is important in the interaction with thymocytes at both immature and mature stages of development (25). Panse and Berrich-Aknin showed that *in vitro* myoid cells were able to modulate lineage commitment of thymocytes favoring CD4+ SP thymocytes (21). The same authors proved that the protective effect of myoid cells towards thymocytes was mediated through direct cell-to-cell interactions and was not due to soluble factors. Kamo et al. observed that conditioned culture medium from rat thymic myoid cells can stimulate thymocyte proliferation (26).

The end of the differentiation process for lymphocytes occurs the medulla where they have been shown to reside up to 2 weeks before being exported to the peripheral lymphoid organs. What happens during this period is not well known.

The main findings in our series are the following: 1) The comparative study of the quantitative percentage of myosin positive cells in thymic stromal cells at 1st, 2nd and 3rd trimester of gestation showed a statistically significant difference in the number of the relevant cells in the thymic medulla during the second and third trimester over the first ($p < 0.0001$, t-test), and therefore a high number of myoid cells in the medullary area during this period could affect the mobility of the neighboring thymocytes. 2) The comparative study of the quantitative percentage of thymocytes expressing UCHL1 antigen at 1st, 2nd and 3rd trimester of gestation showed a statistically significant difference in the number of the relevant cells of the thymic parenchyme during the second and third trimester over the first ($p < 0.0001$, t-test).

CONCLUSION

This work demonstrates that thymic myoid cells have many properties typical of muscle cells, as shown by the quantitative immunohistochemical analysis of myosin,

raising the possibility of their involvement in directing the traffic of thymocytes across or out of the gland, during periods with increased demands of the growing fetus for mature T lymphocytes in the peripheral lymphoid organs. It is possible that this effect is mediated by direct cell contacts. Further, we find that relative location within the medulla correlates with specific developmental events, such that each lymphopoietic stage is in a relatively distinct anatomic subregion. Such findings should facilitate identification of the microenvironmental signals that induce and control lymphopoiesis in the steady-state fetal thymus.

REFERENCES

1. Petrie HT. Cell migration and the control of post-natal T-cell lymphopoiesis in the thymus. *Nat Rev Immunol* 2003; 17: 137-143.
2. Kincate PW, Owen JJ, Igarashi H, Kouro T, Yokota T, Rossi MI. Nature or nurture? Steady-state lymphocyte formation in adults does not recapitulate ontogeny. *Immunol Rev* 2002; 187: 116-125.
3. Yokota T et al. Unique properties of fetal lymphoid progenitors identified according to RAG1 gene expression. *Immunity* 2003; 19: 365-375.
4. Boehmer V. Positive selection of lymphocytes. *Cell* 1994; 76: 219-228.
5. Anderson G, Moore NC, Owen JJT, Jenkinson EJ. Cellular interactions in thymocyte development. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 73-99.
6. Suniara RK, Jenkinson EJ, Owen JJ. An essential role for thymic mesenchyme in early T cell development. *J Exp Med* 2000; 191: 1051-1056.
7. Ferrero I, Anjuere F, MacDonald H, Ardavic C. In vitro negative selection of viral superantigen-reactive thymocytes by thymic dendritic cells. *Blood* 1997; 90: 1943-1951.
8. Revy P, Sospedra M, Barbour B, Trautmann A. Functional antigen-independent synapse formed between T cells and dendritic cells. *Nat Immunol* 2001; 2: 925-931.
9. Van de Velde RL, Friedman NB. Thymic myoid cells and myasthenia gravis. *Am J Pathol* 1970; 59: 347-368.
10. Wakkach A, Poea S, Chastre E et al. Establishment of a human thymic myoid cell line. Phenotypic and functional characteristics. *Am J Pathol* 1999; 155 (4): 1229-1240.
11. Wakkach A, Chastre E, Bruand C et al. Phenotypic and functional characterization of human thymic stromal cell lines. *Cell Mol Biol* 2001; 47: 167-178.
12. Puchtler H, Meloan SN, Branch BW, Gropp S. Myoepithelial cells in human thymus: staining, polarization and fluorescence microscopic studies. *Histochemistry* 1975; 45: 163-176.
13. Dardenne M, Savino W, Bach JF. Thymomatous epithelial cells and skeletal muscle share a common epitope defined by a monoclonal antibody. *Am J Pathol* 1987; 126: 194-198.
14. Wekerle H, Hohlfeld R, Ketelsen UP, Kalden JR, Kalies I. Thymic myogenesis, T-lymphocytes and the pathogenesis of myasthenia gravis. Myasthenia Gravis. *Ann NY Acad Sci* 1981, 455-476.
15. Nakamura H, Ayer Le Lievre C. Neural crest and thymic myoid cells. *Curr Top Dev Biol* 1986; 20: 111-115.
16. Schluep M, Willcox N, Vincent A, Dhoot GK, Newsom Davis J. Acetylcholine receptors in human thymic myoid cells in situ: an immunohistological study. *Ann Neurol* 1987; 22: 212-222.
17. Kao I, Drachman DB. Thymic muscle cells bear acetylcholine receptors: possible relation to myasthenia gravis. Science 1977; 195: 74-75.
18. Seifert R, Christ B. On the differentiation and origin of myoid cells in the avian thymus. *Anat Embryol* 1990; 181: 287-298.
19. Anderson G, Jenkinson EJ. Lymphostromal interactions in thymic development and function. *Nat Rev Immunol* 2001; 1 (1): 31-40.
20. Gray DH et al. Controlling the thymic microenvironment. *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 137-143.

21. Le Panse R, Berrih-Aknin S. Thymic myoid cells protect thymocytes from apoptosis and modulate their differentiation : implication of the ERK and Akt signaling pathways. *Cell Death Differentiation* 2005 ; 12 : 463-472.
22. Germain R. T-cell development and the CD4-CD8 lineage decision. *Nat Rev Immunol* 2002 ; 2 : 309-322.
23. Lind EF, Prockop SE, Porritt HE, Petrie HT. Mapping precursor movement through the postnatal thymus reveals specific microenvironments supporting defined stages of early lymphoid development. *J Exp Med* 2001 ; 194 (2) : 127-134.
24. Prockop SE, Palencia S, Ryan CM, Gordon K, Gray D, Petrie HT. Stromal cells provide the matrix for migration of early lymphoid progenitors through the thymic cortex. *J Immunol* 2002 ; 169 (8) : 4354-4361.
25. Singer KM, Denning SM, Whichard LP, Haynes BF. Thymocyte LFA-1, and thymic epithelial cell ICAM-1 molecules mediate binding of active human thymocytes to thymic epithelial cells. *J Immunol* 1990 ; 144 : 2931-2939.
26. Kamo I, Tada-Kikuchi A, Futukawa S et al. Effects of thymic myoid cell culture supernatant on cells from lymphatic tissues. *Cell Immunol* 1985 ; 94 : 587-597.

NOUTĂŢI

CALITATEA MARGINII RESTAURĂRII DENTARE - CRITERIU AL PERFORMANŢEI CLINICE ?

Importanţa adaptării marginale pentru prevenirea hipersensibilităţii post-operatorii, a coloraţiei marginale, a cariei secundare şi a dislocării obturaţiei, a constituit timp de decenii un postulat al stomatologiei restaurative. În scopul evaluării calităţii marginii restaurării au fost stabilite numeroase teste in vivo şi in vitro care analizau forţa adeziunii materialului la interfaţa cu ţesuturile dentare, percolarea şi hiatusul marginal. În paralel, numeroase studii clinice au estimat performanţa restaurărilor cu materiale dentare în raport cu anumite criterii, considerate a fi în relaţie directă cu calitatea marginii : adaptarea marginală, hipersensibilitatea dentară, coloraţia marginală, dislocarea obturaţiei, caria secundară marginală. Scopul studiului a fost analiza unor studii care au corelat rezultatele testelor de rezistenţa a adeziunii cu testele de percolare şi evaluare a hiatusului marginal şi compararea rezultatelor testelor in vitro cu studiile clinice. Dintre cele 30 de studii care au evaluat forţa adeziunii şi micro-percolarea precum şi dintre cele 12 studii care au analizat forţa adeziunii şi mărimea hiatusului, 80% nu au stabilit nici o corelaţie între caracteristicile testate. Doar două din cele 11 studii care au comparat adaptarea marginală şi succesul clinic, au putut stabili o corelaţie. Autorul sugerează că performanţa clinică a materialelor nu poate fi estimată pe baza rezultatelor testelor care cuantifica in vitro calitatea marginala a restaurarii. Din acest motiv, testele de acest tip utilizate în prezent, ar trebui abandonate iar studiile clinice ar trebui standardizate luând în considerare o serie de variabile suplimentare ce tin atât de pacient cât şi de operator (Heintze SD. Systematic reviews : I. The correlation between laboratory tests on marginal quality and bond strength. II. The correlation between marginal quality and clinical autcome. *J Adhes Dent* 2007 ; 9 : 77-106).

Gianina Iovan

CONTRACTILE EFFECTS OF ANGIOTENSINOGEN AND ITS MULTIPLE METABOLIZATION PATHWAYS ON VESSEL WALLS

Dana Luiza Cernucan[1], B. Gurzu[1], S. Slătineanu[2], Irina Luciana Dumitriu[1], Simona Mihaela Slătineanu[1], M. Costuleanu[3], Gh. Petrescu[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1 Physiology Department
2 IV[th] Obstetric-Gynecology Department
School of Dentistry
3 Immunology and Physiopathology Department

CONTRACTILE EFFECTS OF ANGIOTENSINOGEN AND ITS MULTIPLE METABOLIZATION PATHWAYS ON VESSEL WALLS (Abstract) : The contractile effects of angiotensinogen (Aogen) and its metabolization pathways were studied on rat renal vein (RRV), rat pulmonary artery (RPA) and human umbilical vein (HUV) rings. Experiments were made in the presence or in the absence of pepstatin A (a renin inhibitor, 10 μM), captopril (an ACE inhibitor, 10 μM), chymostatin (a chymase inhibitor, 10 μM), amastatin (an aminopeptidase-A and -M inhibitor) or losartan (a specific AT1 blocker, 10 μM). On all rings, Aogen - induced contractions were reduced by pepstatin A or captopril, amplified by amastatin and blocked by losartan. Chymostatin had a stronger inhibitory effect than captopril on HUV and simultaneous administering of chymostatin and captopril prevented Aogen contractile effects on HUV. It is suggested that all studied vessels posses a local renin-angiotensin system and possibility of angiotensin II production within the vessel walls using various and species - dependent enzymatic pathways. **Key words**: ANGIOTENSINOGEN, METABOLIZATION PATHWAYS, VESSEL WALLS

The observation that angiotensinogen (Aogen) expression is widely distributed has led to the discovery of "self-contained" tissue (or local) angiotensin (Ang) II-generating systems. It is considered that local renin angiotensin systems (RAS), which operate partly or wholly independently of the circulating RAS, are important in the process of vascular disease and may mediate the additional nonhemodynamic activities in many tissues as well as the vessel wall (1,2). The activity of the RAS is controlled by sequential proteolytic processing of the Aogen, ultimately into the major effector, Ang II (3). Therefore, vessels not only respond to circulating Ang II, but also utilize vascular (local) enzymes to convert Aogen or Ang I to Ang II and respond to this locally-produced Ang II (4). Many of the enzymatic components required for Ang II production are present in the wall vessel. Specifically, renin-like enzymes that release Ang I from Aogen, such as cathepsin D, tonins, chymases, and aspartyl proteases, have been identified in the vessel wall (5,6). Further, Ang I will be convert to Ang II by the classic angiotensin I converting enzyme (ACE) or chymase, cathepsin G, elastin and tonin - like enzymes (7,8,9). Even more, vascular walls could synthesize Ang II directly from Aogen by elastin, tonin and catepsin G (8). The locally produced Ang II

is converted by aminopeptidase A to Ang III and then by aminopeptidase N to Ang IV. Another metabolic pathway is conversion of Ang I into Ang III via des-Asp-Ang I without Ang II formation (10).

We studied contractile effects of Aogen and its degradation pathways by using enzymatic inhibitors and angiotensin receptor type 1 (AT1) blocker.

MATERIALS AND METHODS

The renal veins and pulmonary arteries were obtained from male Wistar rats (150–200 g body weight). Animals were decapitated and exsanguinated and vessels were rapidly removed, and carefully cleaned of adhering connective tissues. Human umbilical veins were obtained from umbilical cords after delivery. The experiments were performed in endothelium-intact preparations with a stable baseline tension. It was examined the response to Aogen and whether Aogen - induced contractions are influenced by 30 minutes pre-treatment with 10 μM pepstatin A (a renin inhibitor), captopril (an angiotensin I converting enzyme inhibitor), chymostatin (a chymase inhibitor), amastatin (an aminopeptidase A inhibitor) or losartan (a blocker of Ang II type 1 receptors). The vessels segments were cut into rings, 2 mm wide and mounted between stainless steel hooks in 2 ml tissue organ baths containing a modified Krebs–Henseleit (in mM : NaCl 118, KCl 4.8, $CaCl_2$ 2.5, $MgSO_4$ 1.6, KH_2PO_4 1.2, $NaHCO_3$ 25, glucose 5.5) at 37°C, bubbled continuously with 95%O_2 /5%CO_2 (pH=7.2-7.4). Before the actual experiment each ring was allowed to equilibrate for 90 min. under a resting tension of 1 g (RRV and RPA) or 120 min. under a resting tension of 5 g (HUV), with saline renewal every 15 min., and then stimulated with the reference contracting agent (KCl, 40 mM). Preparations with an unstable baseline tension were discarded as inadequate for further experimentation. Changes in isometric tension were monitored using force transducers connected to a PC via the PC-LPM-16 multifunctional I/O board (National Instruments Corp., Austin TX), driven by the respective standard software (NiDaqWin). The response induced by 40 mM KCl was considered as control. Statistical significance was tested using one-way analysis of variance (ANOVA), completed with the Bonferroni method (SigmaStat package from Jandel Scientific Software, San Rafael, CA); $p<0.05$ was considered statistically significant. Angiotensinogen, pepstatin A, captopril, chymostatin,

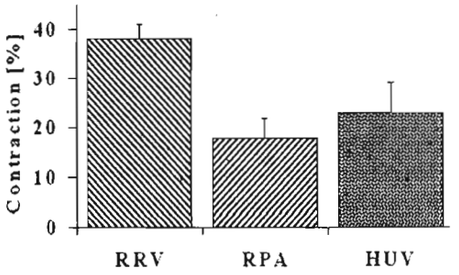


Fig. 1. Contraction induced by angiotensinogen (10μM) on rat renal vein (RRV), rat pulmonary artery (RPA) and human umbilical vein (HUV) rings. Results are expressed as percentage from control contractions produced 40 mM KCl (n=6)

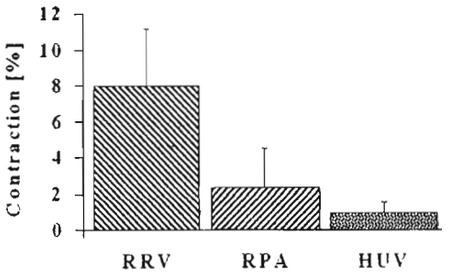


Fig. 2. Contraction induced by angiotensinogen (10μM) on rat renal vein (RRV), rat pulmonary artery (RPA) and human umbilical vein (HUV) rings after 10 μM losartan pre-tretment. Results are expressed as percentage from control contractions produced 40 mM KCl (n=6)

amastatin and losartan were all obtained from Sigma (Sigma-Aldrich Inc., St. Louis MO). All the other compounds used were of analytical grade. This study was approved by the Ethics Committee of the University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" Iaşi.

RESULTS

Aogen-induced contractions and involvement of AT1 receptors are presented in fig. 1 and fig. 2, respectively.

To investigate participation of angiotensins on contractile effects of Aogen were used enzymatic inhibitors: pepstatin A (a renin inhibitor), captopril (an angiotensin I converting enzyme inhibitor), chymostatin (a chymase inhibitor) and amastatin (an aminopeptidase A inhibitor). Effects on Aogen - induced contractions are presented in fig. 4.

DISCUSSIONS

Aogen-induced contractions are presented in fig. 1. These data showed both species and tissue dependence of contractile responses provoked by Aogen.

Pretreatment with losartan (an AT1 blocker) prevent Aogen induced contractions on all studied vessels. These data indicate that Aogen – induced contraction are mediated by type 1 Ang II receptors. But, till now, there are none evidences that Aogen could produce vasoconstriction by itself. So, contractile responses obtained by us are the result of Aogen degradation to vasoconstrictor angiotensins. The degradation pathways of Aogen investigated in this article are presented in fig. 3.

Classically, Aogen is cleaved to Ang I by renin. Pretreatment with pepstatin A (a renin inhibitor) just reduced Aogen - induced contractions only on RPA and HUV (fig. 4) denote significance of other enzymatic pathways of Aogen degradation. We used captopril and chymostatin to inhibit Ang I cleavage in Ang II (fig 4). As we expected chymostatin did not significantly decreased

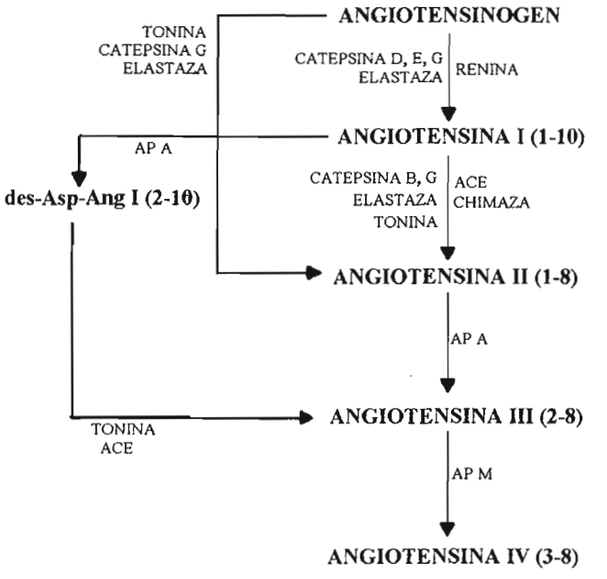


Fig. 3. Enzymatic pathways of angiotensin metabolism

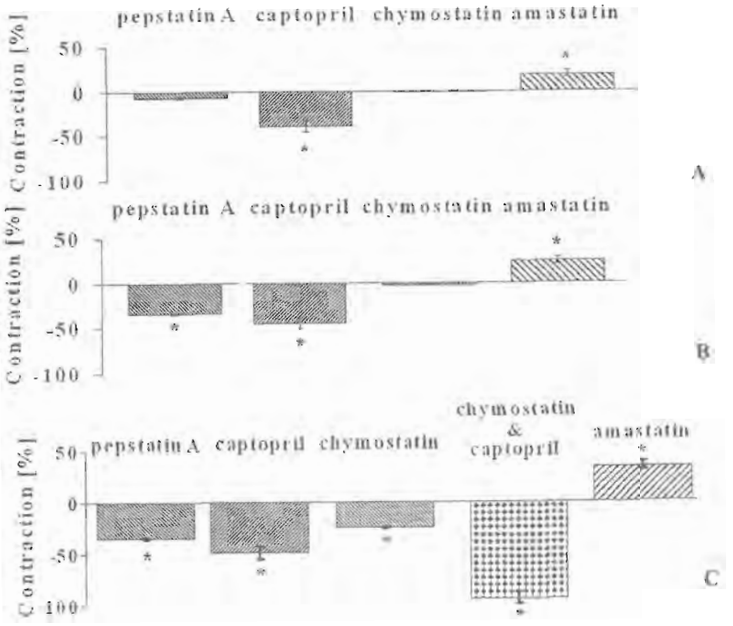


Fig. 4. Contraction induced by angiotensinogen (10μM) on rat renal vein (A), rat pulmonary artery (B) and human umbilical vein (C) rings after pre-treament with 10μM pepstatin A, chymostatin, captopril, amastatin or losartan. Results are expressed as percentage from contractions produced by angiotensinogen alone (n=6). *p<005 as compared with contractions produced by angiotensinogen alone

Aogen - induced contractions on rat vessels. Our results are in agreement with previously published studies that suggested a low activity of the chymase on rat vessels (1). ACE - inhibition by captopril pre-treatment reduced Aogen only induced contractions on all studied vessels suggesting existence of other possibilities of local Ang II generation. Anyway, chymostatin and captopril co-administering almost prevented contractile effects of Aogen on HUV. These results emphasize differences between rat and human vascular RAS.

Amastatin is an inhibitor of aminopeptidase A and other aminopeptidases. Pre-treatment with amastatin inhibited both degradation of Ang II and conversion of Ang I to des-Asp-Ang I. Both effects ultimately lead to augmentation of Ang II synthesis. Indeed, amastatin pre-treatment increased Aogen induced contractions all studied vessels. Correlate these results with powerful inhibitory effect of losartan we can confirm that contractile effects of Aogen are caused by locally synthesized Ang II on AT1 receptors.

CONCLUSIONS

The present study again demonstrated that conversion of Aogen to Ang I and Ang II occurs not only in plasma, but also in vascular walls. It is suggested that all studied vessels posses a local renin-angiotensin system and possibility of angiotensin II production within the vessel wall using more enzymatic pathways than classically describe renin - ACE manner.

REFERENCES

1. Dzau VJ. Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: a unifying hypothesis. *Hypertension* 2001; 37: 1047-1052.
2. Campbell DJ. Circulating and tissue angiotensin systems. *J Clin Invest* 1987; 79: 1-6.
3. Brasier AR, Recinos A 3rd, Eledrisi MS. Vascular inflammation and the renin-angiotensin system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22 (8): 1257-1266.
4. Miyazaki M, Takai S. Tissue angiotensin II generating system by angiotensin-converting enzyme and chymase. *J Pharmacol Sci* 2006; 100 (5): 391-397.
5. Campbell DJ. The site of angiotensin production. *J Hypertens* 1985; 3: 199-207.
6. Lilly LS, Pratt RE, Alexander RW, Larson DM, Ellison KE, Gimbrone M Jr, Dzau VJ. Renin release by endothelial cells in culture. *Circ Res* 1985; 57: 312-318.
7. Nobuhiko A, Suganuma E, Babaev VR, Fogo A, Swift LL, Linton MF, Fazio S, Ichikawa I, Kon V. Angiotensin II amplifies macrophage-driven atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24 (11): 2143-2148.
8. McDonald JE, Padmanabhan N, Petrie MC, Hillier C, Connell JM, McMurray JJ. Vasoconstrictor effect of the angiotensin-converting enzyme-resistant, chymase-specific substrate şPro(11)(D)-Ala(12)ţ angiotensin I in human dorsal hand veins: in vivo demonstration of non-ace production of angiotensin II in humans. *Circulation* 2001; 104 (15): 1805-1808.
9. Lindsey CJ, Bendhack LM, Paiva AC. Effect of pH on the inhibition of angiotensin converting activity by enalaprilat in the rat perfused mesenteric vascular bed. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 243 (1): 292-296.
10. Bauer J, Berthold H, Schaefer F, Ehmke H, Parekh N. Quantification of conversion and degradation of circulating angiotensin in rats. *Am J Physiol* 1999; 277 (2 Pt 2): R412-418.

NOUTĂŢI

EPIDEMIOLOGIA MOLECULARĂ A METALO-BETA-LACTAMAZELOR PRODUSE DE TULPINI DE *Pseudomonas aeruginosa* DIN REGIUNEA CALGARY

Caracterizarea moleculară a tulpinilor de *Pseudomonas aeruginos*a rezistente la carbapeneme, a fost făcută prin tehnica secvenţierii integron-asociată PCR şi prin PFGE, cu tulpini modificate de *Stenotrophomas maltophilia* şi *Streptococcus pneumoniae*. Tulpinile au fost izolate din trei spitale de adulţi şi unul de pediatrie din regiunea Calgary în perioada 2002-2006. Majoritatea tulpinilor investigate (96%) au produs metalo-beta-lactamaze (MBL) tip VIM-2, iar restul tulpinilor (4%) au fost producătoare de MBL tip IMP-7. 86% dintre producătorii VIM-2 aparţin grupului MBLV responsabil de izbucniri epidemice în secţii de terapie intensivă şi de transplant în anii 2003, respectiv 2004. Izolatele producătoare de IMP-7 au aparţinut unui grup diferit, MBLI, descris în 1990. Tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa*, MBL-negative au aparţinut grupului NMBL. Această caracterizare moleculară a tulpinilor de *Pseudomonas aeruginosa* producătoare de MBL a demonstrat un proces dinamic care necesită o supraveghere epidemiologică continuă (Pitout JD, Chow BL, Gregson DB, Laupland KB, Elsayed S, Church DL. Molecular epidemiology of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the Calgary Health Region: emergence of VIM-2-producing isolates. *J Clin Microbiol* 2007; 45 (2): 294-298).

Cristina Tuchiluş

POTENŢIALE EVOCATE VIZUAL ÎN EVALUAREA PROFILULUI DE SIGURANŢĂ AL LEVOCETIRIZINEI

Florica Popescu[1], F.D. Popescu[2], Maria Iancău[3], D Georgescu[4]
Universitatea de Medicină şi Farmacie Craiova
Facultatea de Medicină
1 Disciplina de Farmacologie
3 Disciplina de Fiziologie
4 Disciplina de Biostatistică
Universitatea de Medicină şi Farmacie "C. Davila" Bucureşti
Facultatea de Medicină
2 Disciplina de Alergologie

VISUAL EVOKED POTENTIALS IN THE EVALUATION OF THE SAFETY PROFILE OF LEVOCETIRIZINE (Abstract): Because human histamine H_1 receptors were visualized at different brain levels, we evaluated the effects of levocetirizine (LCZ) on the visual evoked potentials (VEP). **Material and method**: Eighteen volunteer subjects were included in a placebo-controlled study, VEP recordings (pattern-reversal technique) were performed at baseline and 240 min. post-medication, and the N75-P100-N135 complex parameters (latency, duration, amplitude and surface of the components) were measured in the leads FzOL5, FzOz and FzOR5. **Results**: LCZ 5 mg p.o. induced no statistically significant changes, neither in the mean values of all P100 parameters, nor in the mean latency of N75 and N135 components. No unilateral or bilateral alterations of VEP parameters were detected, suggesting that LCZ has no influence on the functional integrity of visual sensorial pathway. **Conclusion**: Our study may initiate a novel approach in the neurological safety profile evaluation of new H_1 antihistamines using VEP, with the advantage of no radiological exposure. **Key words**: VISUAL EVOKED POTENTIALS, LEVOCETIRIZINE, SAFETY PROFILE

Antihistaminicele H_1 cu administrare orală reprezintă o clasă de medicamente larg utilizată pentru tratamentul multor afecţiuni alergice, cum ar fi rinita alergică şi urticaria.

Criteriile care definesc caracterul nesedativ al antihistaminicelor H_1 (3) sunt: incidenţa somnolenţei, alterarea funcţiilor cognitive şi psihomotorii, şi măsurarea gradului de ocupare a receptorilor histaminergici H_1 (H_1R) la nivelul sistemului nervos central (SNC). Întrucât sedarea şi somnolenţa nu sunt superpozabile, iar unele teste obiective cognitive şi psihomotorii au limitele lor, cuantificarea ocupării H_1R (H_1RO) la nivelul SNC reprezintă un criteriu important. În funcţie de mecanismele histaminergice implicate, unele antihistaminice H_1 pot induce somnolenţă şi afectarea unor performanţe care pot conduce la accidente, în special rutiere, uneori fatale (20).

Deoarece există o echivalenţă între H_1R periferici şi din SNC (23), efectele adverse centrale ale antihistaminicelor H_1 depind de gradul de penetrare a barierei hematoencefalice (BHE) şi de H_1RO la nivel cerebral (6). Recomandările recente (3) poziţionează favorabil măsurarea H_1RO prin tomografie cu emisie de pozitroni (PET, *positron emission tomography*). PET şi o serie de

metode neurofiziologice au potenţialul de a clarifica anatomia funcţională şi circuitele neurochimice care stau la baza efectelor nedorite ale antihistaminicelor H_1 asupra SNC. Studiile PET controlate placebo şi încrucişate au însă dezavantajul expunerii radiologice crescute (21).

Deoarece H_1R au fost vizualizaţi *in vivo* la diferite niveluri ale SNC, inclusiv nucleul geniculat lateral talamic şi cortexul occipital, iar potenţialele evocate vizual (VEP, *visual evoked potentials*) pot fi utilizate ca investigaţie neurofiziologică în farmacologia alergologică (9), am realizat un studiu clinic de evaluare a profilului de siguranţă al unui antihistaminic H_1 de generaţie nouă asupra integrităţii funcţionale a căii optice, investigat prin înregistrări ale VEP.

Levocetirizina (LCZ), *R*-enantiomerul activ al cetirizinei, a fost antihistaminicul H_1 modern ales, deoarece are caracteristici favorabile farmacodinamice şi farmacocinetice dovedite, incluzând biodisponibilitate crescută, debut rapid al acţiunii, volum de distribuţie scăzut şi metabolism hepatic minim (26). LCZ este un medicament cu grad mare al H_1RO la nivel periferic, atât la 4 ore, cât şi la 24 de ore, ceea ce se corelează cu eficacitatea clinică (1).

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul clinic neurofiziologic farmacologic a fost realizat prin colaborare multidisciplinară şi a avut un protocol controlat placebo, încrucişat (fig. 1), respectând standardele etice privind consimţământul informat al participanţilor la cercetarea medicală (27).

Selecţia şi descrierea participanţilor la studiu

Un număr de 18 voluntari adulţi, de ambele sexe, au fost incluşi în cercetarea realizată în primele patru luni ale anului 2007. Criteriile de neincludere au fost: epilepsia sau antecedentele personale de convulsii, migrena sau istoricul de migrenă, sarcina sau alăptarea, leziunile nervului optic, scleroza multiplă (chiar stadii subclinice), afecţiunile oftalmologice, bolile cerebrovasculare şi SNC, pacienţii în tratament cu medicamente cu acţiuni sau efecte asupra SNC (9,10,12,29).

Protocolul studiului, vizitele şi medicaţia

Studiul a avut un protocol controlat placebo, dublu-orb, încrucişat. La vizita iniţială s-a realizat anamneza şi examenul obiectiv de rutină, iar în anumite cazuri, consult oftalmologic sau test de sarcină.

Pacienţii au primit la prima vizită o doză terapeutică de 5 mg LCZ p.o. sau placebo,

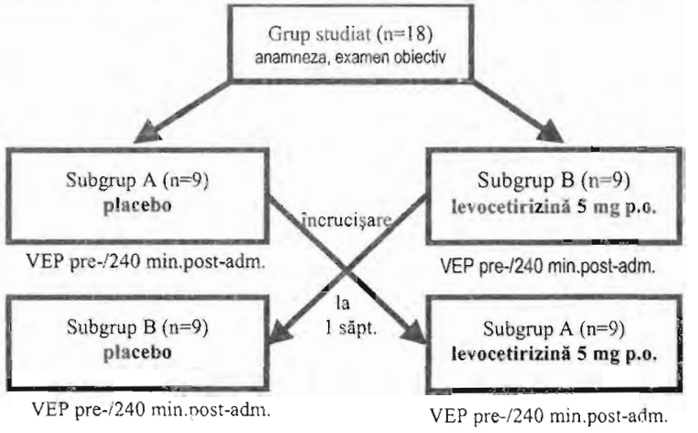


Fig. 1. Protocolul studiului

cu înregistrarea VEP pre-medicaţie sau pre-placebo şi la 240 min. post-administrare medicament sau placebo. Înregistrările VEP s-au realizat prin tehnică *pattern reversal*, monocular, pentru ambii ochi. La a doua vizită, după o săptămână, subiecţilor li s-a administrat fie LCZ 5 mg p.o. (celor care au primit la vizita anterioară placebo), fie placebo (celor cărora li s-a administrat anterior LCZ), cu înregistrarea similară a VEP pre-medicaţie sau pre-placebo şi la 240 min. post-administrare. Pacienţii au primit în acest studiu ca medicaţie activă, levocetirizina (Xyzal®, UCB Pharma).

Înregistrările VEP şi evaluarea parametrilor

VEP au fost înregistrate monocular, succesiv (ochiul drept şi cel stâng), cu câmp întreg (full-field), prin tehnică *pattern-reversal*, avându-se în vedere standardele ISCEV (International Society for Clinical Electrophysiology of Vision). Această tehnică a fost preferată deoarece rezultatele sunt mai puţin variabile. Subiecţii fără defecte de refracţie, ochelari sau lentile de contact au avut părul curat şi uscat, fără aplicaţii anterioare de gel sau spray de păr. Pupilele nu au fost supuse anterior unor aplicări de medicamente miotice sau midriatice (9).

Electrozii au fost plasaţi la nivelul scalpului conform sistemului de clasificare a poziţiei electrozilor 10-20, cu cei activi laterali plasaţi occipital, OL5 (O1) şi OR5 (O2), la 5 cm stânga/dreapta (L/R) de linia mediană şi cel pe cortexul vizual, Oz, cu electrod de referinţă la Fz, la nivelul ariei frontale neresponsive la stimuli vizuali (z indicând poziţie mediană). Procedura VEP a durat în medie 30-45 minute *per* înregistrare. Prin analiza complexului N75-P100-N135 în derivaţiile FzOL5, FzOz şi FzOR5, au fost măsurate latenţa, durata, amplitudinea şi suprafaţa componentelor P100, dar şi a N75 şi N135. S-a urmărit în primul rând latenţa undei P100. Amplitudinea vârf la vârf a undelor N75/P100 a putut fi şi ea calculată.

Analiza statistică

Parametrii VEP au fost calculaţi ca medii +/- DS (deviaţie standard). Compararea valorilor medii pre-/post-placebo, pre-/post-treatment şi post-tratment/post-placebo s-a realizat utilizând testul *t* Student. Toate valorile *p* mai mari de 0,05 au fost considerate statistic nesemnificative

REZULTATE

Datele demografice au relevat 55,55% femei şi 44,45% bărbaţi, iar vârsta medie a fost de 33,16 ani ±15,77 (limite între 19 şi 68 de ani).

Doza orală de 5 mg LCZ nu a indus modificări semnificative statistic faţă de placebo, nici în ceea ce priveşte latenţa undelor P100, N75, N135 (fig. 2), nici în ceea ce priveşte alţi parametri, cum ar fi durata, amplitudinea, suprafaţa şi bruscheţea (tab. I şi II).

Valorile medii ale latenţei P100 (exprimate în ms, ± DS) după stimularea VEP au fost 112,23 ± 6,3 bazal şi 109,85 ± 5,37 post-levocetirizină (p=0,103). Valorile medii ale duratei undei P100 (exprimate în ms, ± DS) au fost 39,5 ± 5,37 bazal şi 42,37 ± 7,06 post-levocetirizină (p=0,206).

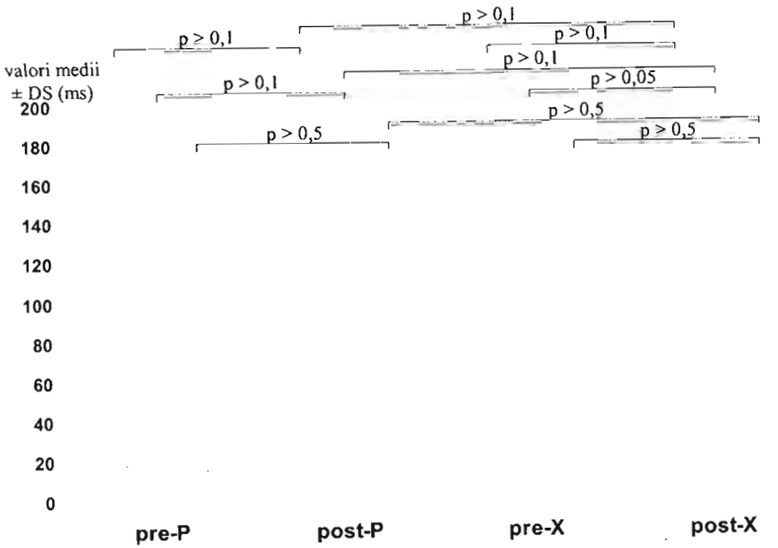
Nu s-au constatat modificări semnificative statistic faţă de placebo ale valorilor

TABELUL I

Analiza statistică a duratei şi amplitudinii undelor P100, N75 şi N135

	Durată pre-X	Durată post-X	Amplitudine pre-X	Amplitudine post-X
P100	p = 0,2		p = 0,25	
N75	p = 0,24		p = 0,89	
N135	p = 0,59		p = 0,48	

X = medicaţia activă reprezentată de levocetirizină (Xyzal) 5 mg p.o.



pre-P = înainte de administrare placebo; post-P = la 240 min după administrare placebo
pre-X = înainte de medicaţie; post-X = la 240 min după administrare levocetirizină (Xzyal) 5 mg p.o.

Fig. 2. Latenţa undelor P100, N75, N135 la pacienţii studiaţi

TABELUL II

Analiza statistică pentru bruscheţe şi suprafaţă a undelor P100, N75 şi N135

	Bruscheţe pre-X	Bruscheţe post-X	Suprafaţă pre-X	Suprafaţă post-X
P100	p = 0,21		p = 0,8	
N75	p = 0,73		p = 0,4	
N135	p = 0,37		p = 0,79	

X = medicaţia activă reprezentată de levocetirizină (Xyzal) 5 mg p.o.

medii ale parametrilor importanţi ai undelor P100, N75 şi N135.

DISCUŢII

Mecanismele prin care antihistaminicele H_1 pot penetra BHE sunt complexe. Această barieră are o structură unică a celulelor endoteliale capilare, cu joncţiuni intercelulare strânse, fără fenestraţii, dar cu asocieri cu procesele podocitare ale astrocitelor (8).

Toate antihistaminicele H_1 pot străbate BHE (11) în funcţie de doză şi proprietăţile lor fizico-chimice (23). Lipofilia, structura moleculară şi ionizarea, volumul de distribuţie şi interacţiunea cu transportorii de tipul glicoproteinei P sunt factori de care poate depinde penetrarea la nivelul acestei bariere (3). După ce străbat BHE, antihistaminicele H_1 ocupă H_1R la nivel cerebral. Regiunile cerebrale bogate în H_1R sunt cortexul frontal, temporal, occipital, girusul cinguli şi talamusul (18).

Variatele grade de H_1RO la nivel cerebral sunt rezultatele diferenţelor de permeabilitate ale antihistaminicelor H_1 prin BHE. Deoarece unele antihistaminice de generaţia a doua care par a fi nesedative, devin

sedative la creşterea dozelor, o reuniune recentă a experţilor în farmacologia antihistaminicelor a stabilit că H_1RO măsurată prin PET trebuie să fie sub 20% la cea mai mare doză recomandată (3). Determinările cu PET pe un număr de minim 6-10 subiecţi se conturează ca un criteriu major pentru evaluarea antihistaminicelor, încurajându-se culegerea de date la nivel internaţional pentru evaluarea profilului sedativ al acestor medicamente (21).

Studiile clinice cu PET şi utilizare de liganzi cum ar fi [^{11}C]doxepin şi [^{11}C]pirilamină au o utilitate specială permiţând clasificarea antihistaminicelor H_1 în sedative, uşor sedative şi nesedative, cu impact practic legat de calitatea vieţii pacienţilor şi siguranţa lor în traficul rutier (22).

O serie de antihistaminice H_1 de primă generaţie sau de generaţie mai nouă au fost evaluate experimental în studii cu PET pe subiecţi umani (7,18,19,20,28). Într-un studiu recent realizat pe cobai, s-a măsurat H_1RO *ex vivo* la nivelul SNC, utilizând [^{3}H]-mepiramină, şi s-a constatat că LCZ prezintă un transport lent la nivelul BHE, fără a ocupa semnificativ H_1R la nivelul SNC pentru a produce efecte adverse centrale (2). Profilul de siguranţă al LCZ în contextul unor sarcini complexe şi solicitante, cum este conducerea autovehiculelor, a fost evaluat în două studii recente (24,25).

Potenţialele evocate sunt metode sensibile de evaluare obiectivă a efectelor antihistaminicelor H_1 asupra anumitor funcţii ale SNC. Avantajul determinărilor electroencefalografice este legat de faptul că nu depind de inteligenţa, motivaţia, pregătirea practică sau dispoziţia subiecţilor (16,17).

Potenţialele evocate auditiv evaluează viteza de procesare cerebrală la stimuli sonori, utilizând electrozi la nivel parietal şi central. Studii cu protocol dublu-orb, placebo-controlat, realizate la adulţi, respectiv copii, la care s-au înregistrat potenţialele evocate auditiv, au evidenţiat că la doze terapeutice p.o. terfenadina nu modifică latenţa P300 în derivaţiile parietale, spre deosebire de clorfeniramină, care creşte acest parametru la 2-3 ore post-administrare (5, 15). Un studiu mai recent a relevat că atenţia auditivă este alterată de clorfeniramină cu creşterea latenţei P300 (13).

Într-un studiu dublu-orb, controlat placebo, cu doze unice şi protocol încrucişat, s-a dovedit că 50 mg hidroxizin şi 50 mg difenhidramină p.o. cresc latenţa medie a P300. Nu s-a constatat o creştere semnificativă a valorilor medii ale latenţei P300 indusă de cetirizină, dar hidroxizinul creşte latenţa acestei unde comparativ cu cetirizina. Utilizând potenţiale evocate cu stimuli acustici, s-a relevat că latenta P300 a fost crescută *vs* placebo de difenhidramină, nu şi de loratadină (14). La copii cu rinită alergică, difenhidramina şi hidroxizinul cresc semnificativ latenţa P300 (15). La vârstnici, modificările latenţei P300 induse medicamentos sunt în ordine descrescătoare produse de: clorfeniramină 8 mg, difenhidramină 50 mg, loratadină 10 mg şi cetirizină 10 mg (16,17).

Un studiu japonez a evaluat efectele unor antihistaminice H_1 de primă generaţie asupra VEP la şobolani. Pirilamina, în doze de 5 şi 10 mg/kg, difenhidramina 5 şi 10 mg/kg şi clorfeniramina 10 şi 20 mg/kg, au produs reduceri semnificative ale amplitudinii componentelor tardive ale VEP. Aceste efecte asupra SNC pot fi explicate prin inhibiţia sistemului senzorial specific legat de mecanisme histaminergice (4).

Pentru completarea profilului de siguranţă al antihistaminicelor H_1 asupra SNC, am realizat studiul de faţă pentru a aprecia dacă LCZ afectează conducerea impulsurilor nervoase în calea optică (10), cercetare care se poate constitui ca o premieră în cuantificarea efectelor neurofiziologice ale noilor antihistaminice H_1 la om. Am utilizat VEP pentru evaluarea integrităţii funcţionale a sistemului vizual, prin înregistrarea

la nivelul scalpului a activităţii bioelectrice a neuronilor occipitali. Am urmărit în special latenţa P100, care prezintă variaţii relativ mici între diferiţi subiecţi, diferenţe minime între cei doi ochi şi variaţii minime la măsurători repetate în timp. Standardizarea măsurătorilor VEP este necesară pentru compararea rezultatelor între diferite laboratoare.

CONCLUZII

În studiul nostru, lipsa efectelor semnificative statistic ale dozelor terapeutice de LCZ asupra paramentrilor VEP reflectă faptul că LCZ absorbită în circulaţia sistemică după administrarea orală a unei doze de 5 mg nu influenţează transmisia nervoasă prin calea optică.

Deoarece nu au existat alterări ale parametrilor VEP unilateral sau bilateral, LCZ nu influenţează integritatea funcţională a căii senzoriale vizuale, nici prechiasmatic, nici retrochiasmatic până la cortexul occipital. Acest studiu poate iniţia o nouă abordare a siguranţei antihistaminicelor H_1 de generaţie nouă.

BIBLIOGRAFIE

1. Gillard M, Benedetti MS, Chatelain P, Baltes E. Histamine H_1 receptor occupancy and pharmacodynamics of second generation H1-antihistamines. *Inflamm Res* 2005; 54 (9): 367-369.
2. Gupta A, Gillard M, Christophe B, Chatelain P, Massingham R, Hammarlund-Udenaes M. Peripheral and central H_1 histamine receptor occupancy by levocetirizine, a non-sedating antihistamine; a time course study in the guinea pig. *Br J Pharmacol* 2007;
3. Holgate ST, Canonica GW, Simons FER et al. Consensus group on new-generation antihistamines (CONGA): present status and recommendations. *Clin Exp Allergy*, 2003; 33 (9): 1305-1324.
4. Iwamura Y, Fujii Y, Kamei C. The effects of certain H1-antagonists on visual evoked potential in rats. *Brain Res Bull* 2003; 61 (4): 393-398.
5. Meador KJ, Loring DW, Thompson EE, Thompson WO. Differential cognitive effects of terfenadine and chlorpheniramine. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84 (3): 322-325.
6. Montoro J, Sastre J, Bartra J et al. Effect of H_1 antihistamines upon the central nervous system. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2006; 16 (Suppl 1): 24-28.
7. Okamura N, Yanai K, Higuchi M et al. Functional neuroimaging of cognition impaired by a classical antihistamine, d-chlorpheniramine. *Br J Pharmacol* 2000; 129 (1): 115-123.
8. Popescu FD. *Antihistaminicele în alergologie*. Bucureşti: Editura Universitară "Carol Davila", 2003, 31-58.
9. Popescu FD, Iancău M, Popescu F. SVEP study for neurological safety profile evaluation of loratadine by visual evoked potentials recordings. *TMJ* 2005; 55 (S5): 247-253.
10. Popescu FD, Iancău M, Popescu F, Georgescu D. Favorable neurological safety profile of levocetirizine evaluated by visual evoked potentials recordings. *Allergy* 2007; 62 (S83): 79.
11. Ramaekers JG, Vermeeren A. All antihistamines cross the blood-brain barrier. *BMJ* 2000; 321: 572.
12. Sener HO, Haktanir I, Demirci S. Pattern-reversal visual evoked potentials in migraineurs with or without visual aura. *Headache* 1997; 37: 449-451.
13. Serra-Grabulosa JM, Sanchez-Turet M, Grau C. The secondary effects of the antihistamine chlorpheniramine on the central nervous system. *Rev Neurol* 2002; 34 (12): 1178-1182.
14. Simons FE, Fraser TG, Reggin JD, Simons KJ. Individual differences in central nervous system response to antihistamines (H_1-receptor antagonists). *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995; 75 (6 Pt 1): 507-514.
15. Simons FE, Fraser TG, Reggin JD, Roberts JR, Simons KJ. Adverse central nervous system effects of older antihistamines in children. *Pediatr Allergy Immunol* 1996; 7 (1): 22-27.
16. Simons FE, Fraser TG, Maher J, Pillay N, Simons KJ. Central nervous system effects of H_1-receptor antagonists in the elderly. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999; 82 (2): 157-160.

17. Simons FER. Non-cardiac adverse effects of antihistamines (H_1-receptor antagonists). *Clin Exp Allergy* 1999; 29 (S3): 125-132.
18. Tagawa M, Kano M, Okamura N et al. Neuroimaging of histamine H_1-receptor occupancy in human brain by positron emission tomography (PET): a comparative study of ebastine, a second-generation antihistamine, and chlorpheniramine, a classical antihistamine. *Br J Clin Pharmacol* 2001; 52 (5): 501-509.
19. Tashiro M, Mochizuki H, Iwabuchi K et al. Roles of histamine in regulation of arousal and cognition: functional neuroimaging of histamine H_1 receptors in human brain. *Life Sci* 2002; 72 (4-5): 409-414.
20. Tashiro M, Yanai K. A potential of positron emission tomography in the drug development of non-sedative antihistamines. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 2003; 122: 78-80.
21. Tashiro M, Mochizuki H, Sakurada Y et al. Brain histamine H_1 receptor occupancy of orally administered antihistamines measured by positron emission tomography with ^{11}C-doxepin in a placebo-controlled crossover study design in healthy subjects: a comparison of olopatadine and ketotifen. *Br J Clin Pharmacol* 2006; 61 (1): 16-26.
22. Tashiro M, Yanai K. Molecular imaging of histamine receptors in the human brain. *Brain Nerve* 2007; 59 (3): 221-231.
23. Timmerman H. Factors involved in the absence of sedative effects by the second-generation antihistamines. *Allergy* 2000; 55 (S60): 5-10.
24. Verster JC, de Weert AM, Bijtjes SI et al. Driving ability after acute and sub-chronic administration of levocetirizine and diphenhydramine: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Psychopharmacol* 2003; 169 (1): 84-90.
25. Verster JC, Volkerts ER. Antihistamines and driving ability: evidence from on-the-road driving studies during normal traffic. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 92 (3): 294-303.
26. Walsh GM. Levocetirizine: an update. *Curr Med Chem* 2006; 13 (22): 2711-2715.
27. *** World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2000; 284 (23): 3043-3045.
28. Yanai K, Ryu JH, Watanabe T, Iwata R, Ido T, Sawai Y, et al. Histamine H_1 receptor occupancy in human brains after single oral doses of histamine H_1 antagonists measured by positron emission tomography. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 1649-1655.
29. Yilmaz H, Erkin EF, Mavioglu H, Sungurtekin U. Visual evoked potentials in pregnancy. *Neuro-Ophthalmol* 1999; 21 (4): 205-210.

NOUTĂŢI

INFLUENŢA UNUI EXTRACT DIN *ROSMARINUS OFFICINALIS* ASUPRA MODIFICĂRILOR BIOCHIMICE INDUSE DE RADIAŢII

Soyal D et al. au studiat *in vivo* efectele radioprotectoare ale unui extract din frunze de *Rosmarinus officinalis* L. (*Lamiaceae*, rozmarin). La şoareci Swiss-albino supuşi iradierii cu radiaţii γ (6 Gy) s-a constatat o creştere a colesterolului seric, o intensificare a proceselor de peroxidare lipidică, precum şi o scădere a glutationului sanguin şi hepatic. Aceleaşi variaţii ale parametrilor biochimici au fost observate şi la animalele cărora li s-a administrat extractul din frunze de rozmarin înainte de iradiere; în acest caz însă, variaţiile au fost mult mai mici. Această acţiune radioprotectoare este datorată, în principal, polifenolilor cu proprietăţi antioxidante din frunzele de rozmarin: acizi polifenolcarboxilici şi flavonoide (Soyal D, Jindal A, Singh I, Goyal PK. Modulation of radiation-induced biochemical alterations in mice by rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract. *Phytomedicine* 2007; 14 (10): 701-705).

Anca Miron

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

CUANTIFICAREA PARAMETRILOR CELULARI ÎN APRECIEREA PROGNOSTICULUI CARCINOMULUI SCUAMOS DE COL UTERIN

R. Pandeli
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica a II-a Obstetrică Ginecologie

CELLULAR PARAMETERS QUANTIFICATION IN PROGNOSIS ASSESSMENT OF CERVICAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA (Abstract): Invasive squamous cell carcinoma develops from squamous intraepithelial lesions (SIL), that is why women with this tumour have the same epidemiologic characteristics to those with preinvasive precursor lesions. **Material and methods**: We have investigated 34 cases of intraepithelial squamous lesions, diagnosticated cytological and histopathological. **Results**: For the biphasic quantification, there were taken in consideration all the established parameters (area, perimeter, diameter, long axis, short axis, roundness, eccentricity) and the results are presented for nucleus and nucleolus. For proliferative activity, there were quantificated the mitotic activity index and mitotic density, the results being presented for high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 3). **Conclusions**: Biphasic measurement could be useful in diagnostic and prognostic of different grades of squamous carcinomas, adenocarcinomas or undifferentiated carcinomas, but not in assessment of malignancy risk of some dysplasias. **Key words**: CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA, BIPHASIC MEASUREMENT, PROLIFERATIVE ACTIVITY

În ciuda tehnicilor avansate de detectie şi management, cancerul cervical continuă să reprezinte o importantă problemă de sănătate la nivel mondial. Cancerul de col uterin apare la femei de aproape orice vârstă, pornind de la 17 ani, şi ajungând până la 90 de ani (1). Există evidenţe care indică faptul că această entitate se dezvoltă din leziuni intraepiteliale scuamoase şi, în consecinţă, femeile cu carcinom scuamos cervical invaziv prezintă caracteristici epidemiologice similare celor cu leziuni precursoare preinvazive (2).

MATERIAL ŞI METODĂ

S-au luat în studiu 34 cazuri de leziuni intraepiteliale scuamoase, care au fost prelucrate după metodele standard de citologie şi histopatologie, în toate cazurile respectându-se aceleaşi condiţii de recoltare şi prelucrare microscopică. Cazurile au provenit de la Clinia a II-a Obstetrică-Ginecologie, Maternitatea Cuza Vodă din Iaşi.

Diagnosticul s-a realizat iniţial pe frotiuri, folosindu-se coloraţia Papanicolau şi terminologia Sistemului Bethesda, ulterior efectuându-se biopsii, diagnosticul histopatologic fiind realizat pe coloraţia uzuală Hematoxilină Eozină.

Pentru evidenţierea calitativă a leziunilor, o atenţie deosebită s-a acordat stadiului CIN 3 (cervical intraepithelial neoplasia 3) (3), considerat un stadiu de trecere de la CIN la CIS (carcinoma in situ).

S-au folosit numeroase tehnici pentru aprecierea caracteristicilor citologice din cadrul acestor leziuni, cele mai semnificative fiind măsurătoarea bifazică şi activita-

tea proliferativă.

Prelucrarea statistică s-a realizat pentru fiecare din parametrii enumeraţi mai sus, în fiecare fază calculându-se următoarele date: *media valorilor* pentru fiecare din cele două faze cuantificate (celulă şi nucleu); *mediana* (valoarea centrală a unei serii statistice); *modulul* (valoarea caracteristicii cu frecvenţa maximă); *deviaţia* şi *eroarea standard,* acestea fiind tehnici simple statistice.

Pentru o prelucrare mult mai rafinată am folosit *Corelaţia Bivariată Pearson*. Prin analiza formei distribuţiei (Graphs-Histogram) (4), la fiecare factor s-au obţinut distribuţii apropiate de distribuţia parametrică; de aceea am recurs la calcularea corelaţiei, cu ajutorul formulei lui Bravais-Person:

$$r = \frac{\Sigma (x-m)(y-m_1)}{\sqrt{\Sigma(x-m)^2 \Sigma(x-m_1)^2}}$$

în care x şi y sunt rezultatele obţinute, iar m şi m_1 reprezintă mediile celor două distribuţii. Astfel, la numărător avem suma produselor, iar la numitor suma pătratelor abaterilor (5). Corelaţiile au fost calculate cu ajutorul programului computerizat SPSS.

REZULTATE

REZULTATELE MĂSURATORII BIFAZICE

Toate rezultatele cuantificării bifazice, în fiecare lot, sunt prezentate pentru cele două faze (faza 1 - nucleul, faza 2 - nucleolul), fiind luaţi în considerare toţi parametrii stabiliţi iniţial (arie, perimetru, diametru, axa lungă, axa scurtă, rotunjimea, excentricitatea etc.). Prezentarea rezultatelor proprii pune accent pe parametrii mai importanţi, discutându-se verificarea statistică, reprezentarea grafică şi compararea valorilor celor două faze.

Aria celulelor
Media = 411,74 μm^2
Mediana = 394,84 μm^2
Modulul = 356,82 μm^2

Aria nucleilor
Media = 54,37 μm^2
Mediana = 54,46 μm^2
Modulul = 59,74 μm^2

Eroarea standard are valori mici (8,81), ceea ce arată semnificaţia modificărilor constatate, factorii aleatori influenţând puţin parametrul studiat.

Perimetrul celulelor
Media = 77,45 µm
Mediana = 76,13 µm
Modulul = 84,08 µm
P_{min} = 65,60 µm
P_{max} = 95,16 µm

Perimetrul nucleilor
Media = 28,15 µm
Mediana = 28,45 µm
Modulul = 30,26 µm
P_{min} = 22,99 µm
P_{max} = 33,02 µm

Diametrul celulelor
Media = 22,78 µm
Mediana = 22,42 µm
Modulul = 21,08 µm
D_{min} = 19,90 µm
D_{max} = 29,36 µm

Diametrul nucleilor
Media = 8,29 µm
Mediana = 8,32 µm
Modulul = 8,29 µm
D_{min} = 6,92 µm
D_{max} = 9,31 µm

Deviaţia standard şi eroarea standard au valori foarte mici, arătând că modificărilor constatate sunt foarte semnificative, neinfluenţate de factori aleatori.

Axa lungă a celulelor
Media = 31,02 µm
Mediana = 32,78 µm
Modulul = 33,17 µm
V_{min} = 24,51 µm
V_{max} = 38,56 µm

Axa lungă a nucleilor
Media = 10,81 µm
Mediana = 10,73 µm
Modulul = 11,11 µm

V_{min} = 8,64 µm
V_{max} = 13,35 µm

Eroarea standard în cazul axei lungi a celulelor, are valori mici (3,87), ceea ce arată semnificaţia modificărilor constatate, factorii aleatori influenţând puţin parametrul studiat. Eroarea standard în cazul nucleilor are valori mici (1,22), ceea ce arată semnificaţia modificărilor constatate, factorii aleatori influenţând puţin parametrul studiat.

Axa scurtă a celulelor
Media = 17,28 µm
Mediana = 16,85 µm
Modulul = 16,24 µm
V_{min} = 12,87 µm
V_{max} = 24,78 µm

Axa scurtă a nucleilor
Media = 6,65 µm
Mediana = 6,60 µm
Modulul = 6,56 µm
V_{min} = 5,02 µm
V_{max} = 8,26 µm

Eroarea standard are valori mici (2,42), ceea ce arată semnificaţia modificărilor constatate, factorii aleatori influenţând puţin parametrul studiat.

COREL AŢII

- *Axele scurte* - corelaţie medie pozitivă direct proporţională (r=0,42; p <0,01; N=34 cazuri).
- *Aria celulei - conturul celulei* - corelaţie slabă negativă, invers proporţională (r=-0,144; p<0,05; N=34 cazuri). Aceasta semnifică faptul că atunci când aria celulei creşte, scade conturul celulei.
- *Perimetrul celulei - conturul celulei* - corelaţie slabă pozitivă, direct proporţională (r=0,243; p<0,05; N=34 cazuri). Aceasta semnifică faptul că atunci când perimetrul celulei creşte, creşte şi conturul celulei.
- *Perimetrul celulei - rotumjimea celulei* - corelaţie slabă pozitivă, direct pro-

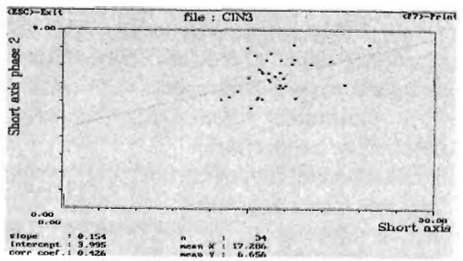


Fig. 1. Graficul gradului de corelaţie dintre cele două axe scurte în CIN 3

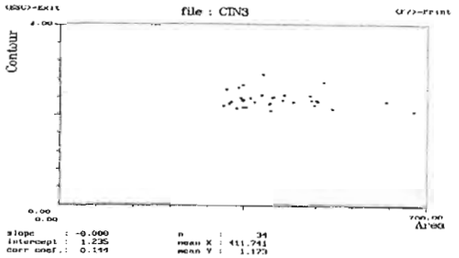


Fig. 2. Graficul gradului de corelaţie între aria şi conturul celulei.

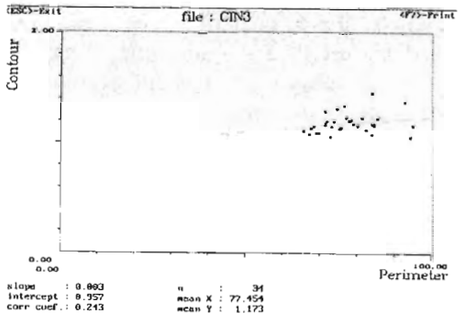


Fig. 3. Graficul gradului de corelaţie între perimetrul şi conturul celulei

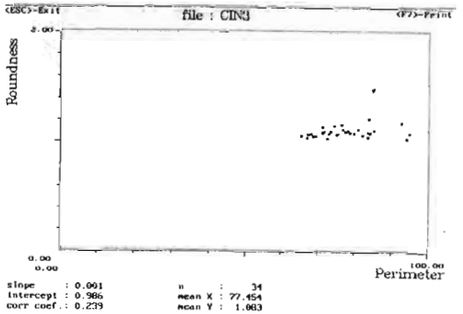


Fig. 4. Graficul gradului de corelaţie între perimetrul şi rotunjimea celulei

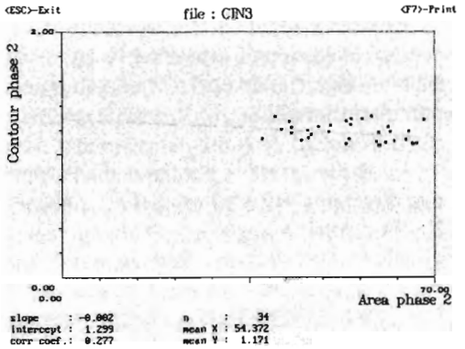


Fig. 5. Graficul gradului de corelaţie între aria şi conturul nucleului

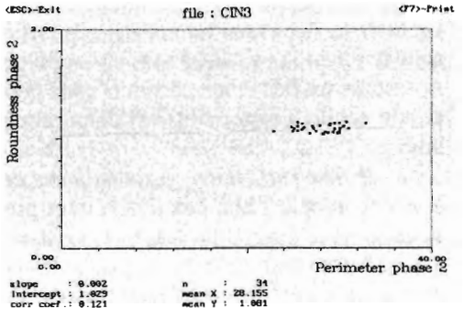


Fig. 7. Graficul gradului de corelaţie între perimetrul şi rotunjimea nucleului

porţională (r=0,239 ; p<0,05 ; N=34 cazuri). Aceasta semnifică faptul că atunci când perimetrul celulei creşte, se modifică şi rotunjimea celulei în sens pozitiv.

- *Conturul nucleului - aria nucleului* - corelaţie slabă negativă, invers proporţională (r= - 0,277 ; p<0,05 ; N=34 cazuri). Aceasta semnifică faptul că atunci cand aria nucleului creşte, scade conturul nucleului.

- *Perimetrul nucleului - conturul nucleului* - corelaţie slaba pozitivă, direct proporţională (r=0,125 ; p<0,05 ; N=34 cazuri). Aceasta semnifică faptul că atunci când perimetrul nucleului creşte, creşte şi conturul nucleului.

- *Perimetrul nucleului - rotunjimea nucleului* - corelaţie slaba pozitivă direct proporţională (r=0,121 ; p<0,05 ; N=34 cazuri). Aceasta semnifică faptul că atunci când

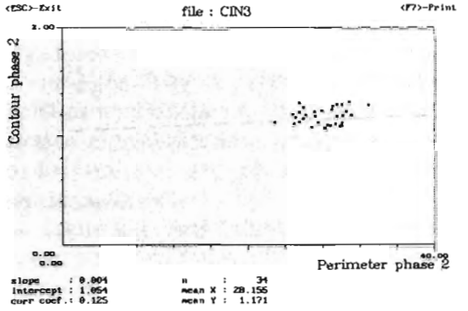


Fig. 6. Graficul gradului de corelaţie între perimetrul şi conturul nucleului

perimetrul nucleului creşte, se modifică şi rotunjimea nucleului în sens pozitiv.

ACTIVITATEA PROLIFERATIVA

Aprecierea activităţii proliferative s-a făcut pe 50 câmpuri consecutive, utilizând un ocular 10x, un obiectiv 40x cu apertura numerică 0.75 şi un câmp circular cu diametrul de 450 μm şi suprafaţa de 0.159043 mm^2. S-au cuantificat :

- *indexul activităţii mitotice* (IAM) care reprezintă numărul total de figuri mitotice numărate pe aceste câmpuri ;

- *densitatea mitotică* care reprezintă numărul de mitoze/mm^2.

Rezultatele cuantificărilor sunt prezentate sub forma raporturilor calculate automat de software, pentru fiecare tip de cuantificare.

- Indexul activităţii mitotice (IAM) a variat de la o formă la alta a afecţiunilor studiate, şi s-au cuantificat următoarele valori pentru CIN 3 - 4 mitoze la 10 hpf.
- Densitatea mitotică (mitoze/mm^2) a variat de la o formă la alta a afecţiunilor studiate ; referitor la CIN 3, s-au înregistrat urmatoarele valori : 2,4 mitoze/ mm^2

CONCLUZII

Studiul de faţă a demonstrat faptul că modificările cantitative cele mai semnificative apar în neoplazia intraepitelială cervicală de grad înalt, cu tendinţă la microinvazie. Între majoritatea parametrilor dimen-

sionali ai celulei şi nucleului se stabilesc corelaţii directe, discrete sau moderate. Aria nucleului creşte constant, mai evident odată cu apariţia leziunilor de grad înalt (CIN3). Axa scurtă a nucleului creşte brusc la CIN 3, apoi CIS, după care creşte uşor şi se menţine în carcinoamele studiate, iar axa lungă a nucleului creşte brusc odată cu apariţia microinvaziei. Raportul axelor nucleare lungă şi scurtă, prezintă modificări semnificative încă de la trecerea de la un grad la altul, în CIN3.

Parametrii care suferă cele mai semnificative modificări, odată cu agravarea leziunilor sunt : aria nucleară, axele scurtă şi lungă ale nucleului, cuantificarea lor având valoare predictivă.

Aceste constatări ne permit să afirmăm că măsurătoarea bifazică ar putea fi utilizată în diagnosticul şi prognosticul diferitelor grade de carcinoame scuamoase, adenocarcinoame sau carcinoame nediferenţiate, dar nu în aprecierea riscului de malignizare al unor displazii.

BIBLIOGRAFIE

1. Kurman JR. *Blausteins's Pathology of the Female Genital Tract*. 5th ed. Springer-Verlag, 2002, 334-336.
2. Kim YB, Kim GE, Pyo HR et al. Differential cyclooxygenase-2 expression in squamous cell carcinoma andadenocarcinoma of the uterine cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004 ; 60 : 822-829.
3. Tjalma W, Weyler J, Pollefliet C et al. The evaluation of proliferative activity in CIN III and microinvasive cervical cancer and its role in recurrence. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001 ; 94 : 270-275.
4. Freedman D, Pisani R, Purves R, Adhikari A. *Statistics*. 2nd ed. New York, London : W. Norton & Company, 1991, 117-120
5. Lungu O. *Ghid introductiv pentru SPSS 10.0*. Iaşi, 2001, 19-30.

NOUTĂŢI

FACTORII DE RISC PENTRU PROGRESIA CALCIFICĂRILOR CORONARIENE LA SUBIECŢII ASIMPTOMATICI

Studiul multietnic epidemiologic al aterosclerozei (MESA) a oferit oportunitatea evidenţierii relaţiilor dintre factorii de risc cardiovasculari tradiţionali şi incidenţa sau progresia calcificărilor la nivelul arterelor coronariene, într-o cohortă comunitară, fără boală cardiovasculară clinic manifestă. Au fost urmăriţi 5756 participanţi pe o perioadă medie de 2,4 ani. Incidenţa calcificărilor arteriale coronariene a fost detectată cu o incidenţă de 6,6% pe an. Creşterea incidenţei a fost stadială odată cu vârsta, cu valori sub 5 % la subiecţii < 50 ani şi peste 12% la subiecţii peste 80 de ani. Majoritatea factorilor de risc cunoscuţi au fost asociaţi cu o incidenţă crescută de apariţie a calcificărilor şi evoluţia celor vechi : vârsta, sexul masculin, rasa albă, hipertensiunea, creşterea IMC, perturbarea metabolismului glucidic, istoricul familial de infarct miocardic. Riscul de apariţie a incidentelor legate de existenţa calcificărilor s-a raportat, mai ales, la nivelul HDL, LDL şi creatininei. Diabetul zaharat a avut cel mai puternic impact la rasa neagră, intermediar la rasa albă şi mai puţin important la hispanici (Kronmal RA et al. Risk factors for progression of coronary artery calcification in asymptomatic subjects. *Circulation* 2007 ; 115 : 2722-2730).

Corina Dima-Cozma

IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS IN THE STUDY OF GALLBLADDER PREMALIGNANT LESIONS AND CANCER

Manuela Stancu[1], Irina-Draga Căruntu[2], Maria Sajin[3], Simona Giuşcă[4], Adriana Bădescu[1], Gioconda Dobrescu[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1 Department of Histology
School of Dentistry
2 Department of Histology
"C. Davila" University of Medicine and Pharmacy Bucureşti
Schol of Medicine
3 Department of Pathology
"St. Spiridon" University Hospital Iaşi
4 I[st] Surgery Clinic

IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS IN THE STUDY OF GALLBLADDER PREMALIGNANT LESIONS AND CANCER (Abstract): **Aim**: The aim of the study was to perform a comparative analysis of proliferative and apoptotic activity as well as of microvascular density (MVD) in metaplasia, dysplasia and gallbladder carcinoma. **Material and method**: There were investigated 10 cases of chronic cholecystitis associating premalignant lesions and 5 cases of gallbladder carcinoma developed on a chronic cholecystitis background. The immunohistochemical (IHC) staining was made using Ki-67, p53 and CD34 antibodies, and the streptavidin-biotin method. The semiquantitative analysis focused on the intensity of the IHC reaction for Ki-67 and p53 (on a scale from 0 to 4), the Ki-67 index and the percentage of p53 positive cell nuclei. The MVD was established on 5 representative fields as mean of the number of CD34 positive vessels. **Results**: Ki-67 was positive in all 10 chronic cholecystitis cases (100%) and in all 5 carcinoma cases (100%), which is explainable by the selection manner of chronic cholecystitis associating premalignant lesions and by the invasive pattern of the carcinomas. Ki-67 index rose from 10% in simple dysplastic lesions associated with chronic cholecystitis to 20% in severe dysplastic lesions associated with chronic cholecystitis up until 90% in carcinoma. In all chronic cholecystitis, p53 was negative for normal gallbladder epithelium, in metaplastic territories and in those with mild dysplasia. In the dysplastic areas present in chronic cholecystitis, the positive reaction of p53 rose from 20% (in moderate dysplasia) to 80% (in severe dysplasia). All carcinoma cases were p53 positive (100%), its expression varying from 30% in papillary areas and 30-50% in undifferentiated adenocarcinoma to 80-100% in well differentiated type. In chronic cholecystitis MVD was of 5-9 vessels / field in areas adjacent to pyloric metaplasia and 10-20 vessels / field in severe dysplastic areas. Gallbladder carcinoma cases presented a MVD of 15-30 vessels / field. **Conclusions**: The investigation of Ki-67, p53 and MVD brings important data regarding the carcinogenesis process in the gallbladder, initiated on the background of a chronic cholecystitis. The dynamics in the values for Ki-67, p53 and MDV followed from premalignant lesions to carcinoma sustains the hypothesis of the metaplasia - dysplasia - carcinoma sequence. **Key words**: CHRONIC CHOLECYSTITIS, METAPLASIA, DYSPLASIA, GALLBLADDER CARCINOMA, IMMUNOHISTOCHEMISTRY, MICROVASCULAR DENSITY

The development of imunohistochemistry and implicitly of the antibody industry allowed a molecular approach in the pathologic exam, thus opening a wide perspective in the microscopic morphology research. In the biology of the human body, part of the information gathered by qualitative identification of cellular and molecular markers, in correlation with their quantitative evaluation, regards the carcinogenesis process (from tumoral emergence and progression until prognosis and response assessment).

There exists a large panel of immunohistochemical (IHC) markers used in the study of gallbladder premalignant lesions and cancer in association with chronic cholecystitis. Most published data refers to the prognosis value of Ki67 (1,2,3), PCNA (4) and of p53 (1, 2, 5,6,7,8,9,10,11,12,13,14, 15,16,17,18,19,20,21,22,23). Recent studies investigate deeper the carcinogenesis process by approaching tumoral angiogenesis (24,25,26), c-Kit proto-oncogene (27), some citokeratins (27,28,29), S100A4 protein (30,31), some adhesion molecules (E-cadherin, beta-catenine) (32) or growth factors (33,34).

Based on the literature, we focused on the semiquantitative evaluation of the proliferative and apoptotic activity as well as of the microvascular density (MVD) in lesions with malignant transformation risk and in gallbladder carcinoma. Our approach brings as original elements: (i) the establishment of the IHC profile for Ki-67 and p53 markers in metaplastic and dysplastic areas developed on the background of chronic cholecystitis and (ii) the investigation of vascular aspects associated with premalignant and malignant lesions.

MATERIAL AND METHODS

The study group consisted from 10 cases of chronic cholecystitis and 5 cases of gallbladder carcinoma developed on a chronic cholecystitis background. The cases of chronic cholecystitis were intently selected for the associated metaplastic and dysplastic lesions. From the pathologic point of view, the gallbladder carcinomas were classified as: well-differentiated adenocarcinoma - 1 case, moderately differentiated adenocarcinoma - 2 cases, undifferentiated adenocarcinoma - 1 case, pleomorphic carcinoma - 1 case.

The selection of the case was realized from the collection of the Department of Pathology of the "St. Spiridon" University Hospital Iaşi, where the corresponding surgical samples were formalin fixed and paraffin embedded for routine histopathological exam. The IHC staining was performed in the Department of Pathology of the Clinic Emergency Hospital Bucureşti, using the following antibodies: Ki-67, p53, CD34 (DAKO, Denmark), and the streptavidin-biotin method (LSAB Kit, DAKO, Denmark).

For Ki-67 and p53, the stained sections were evaluated and graded for intensity on a scale of 0 to 4 (0 _ none, 1 _ low intense, 2 _ moderate intense, 3 _ intense, 4 _ most intense) (23) and percent staining. The proliferative activity (the Ki-67 positivity index or Ki-67 index) was calculated as number of positive cells from 100 positive and negative cells on microscopic fields examined with x40 objective (3). The expression of p53 was also counted according to the percentage of positive cell nuclei and the reaction was considered positive when at least 20% of the nuclei in tumor cells were stained (20). For the quantification of MVD we used the method described by Weidner et al. (35), choosing 5 highest density microvascular fields at x40 objective and calculating the mean value of CD34 positive vessels for each field.

RESULTS

Ki-67

For the chronic cholecystites, only in two cases (20%) the IHC reaction for Ki-67

was intensely positive (3 on a scale from 0 to 4) in the pyloric metaplasia areas, a Ki-67 index of 10-15% being also observed (fig. 1). In all 10 cases (100%) the areas of simple dysplasia presented a positive expression of moderate intensity (2 on a scale

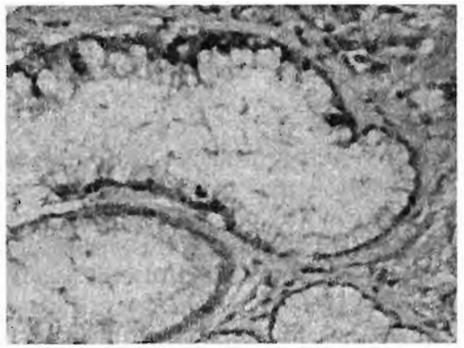


Fig. 1. Chronic cholecystitis with pyloric metaplasia; Ki-67 index of 10% (IHC, x20)

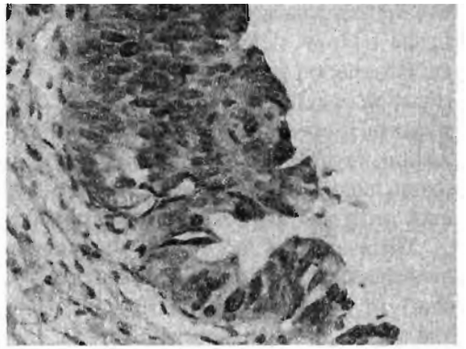


Fig. 2. Chronic cholecystitis with severe dysplasia; Ki-67 index of 15% (IHC, x40)

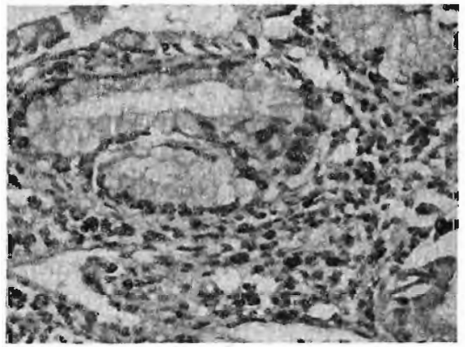


Fig. 3. Pyloric metaplasia in well-differentiated adenocarcinoma; Ki-67 index of 90% (IHC, x20)

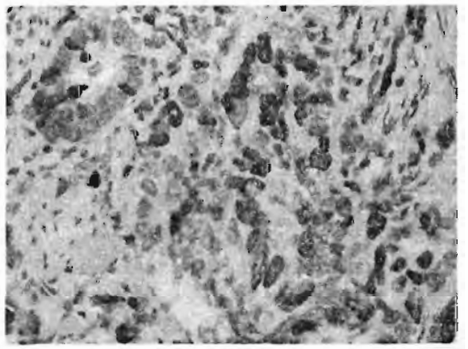


Fig. 4. Moderately differentiated adenocarcinoma; Ki-67 index of 80% (IHC, x20)

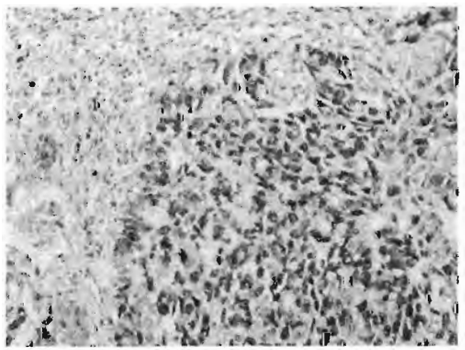


Fig. 5. Undifferentiated adenocarcinoma, Ki-67 index of 90% (IHC, x10)

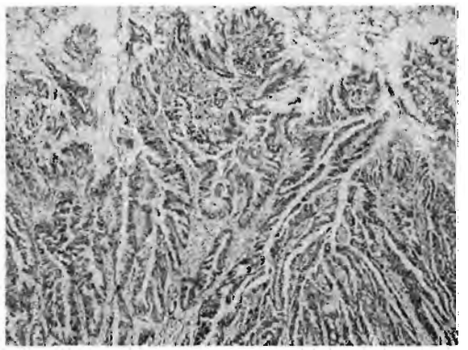


Fig. 6. Papillary zones in pleomorphic adenocarcinoma; Ki-67 index of 50% (IHC, x4)

from 0 to 4), with Ki-67 index of 10%; the areas of severe dysplasia presented intensely positive expression (3 on a scale from 0 to 4) and Ki-67 index of 15-20% (fig. 2).

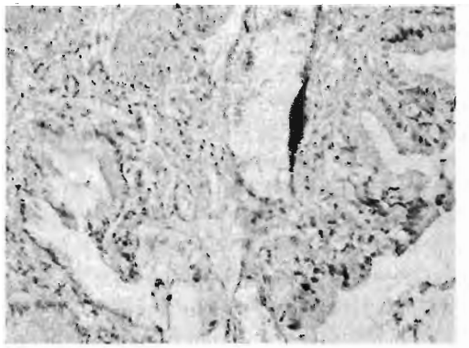


Fig. 7. Chronic cholecystitis with mild dysplasia; negative reaction for p53 (only 5% positive nuclei) (IHC, x10)

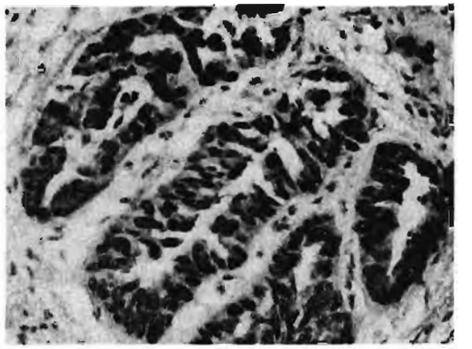


Fig. 8. Well-differentiated adenocarcinoma with positive reaction for p53 (95% positive nuclei) (IHC, x20)

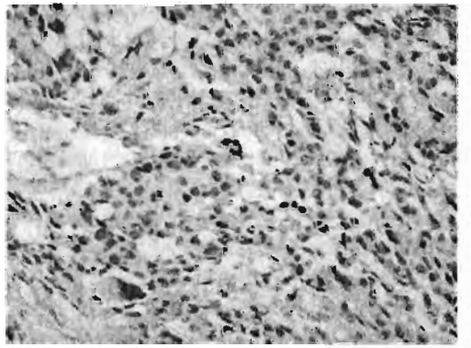


Fig. 9. Undifferentiated adenocarcinoma with positive reaction for p53 (30% positive nuclei) (IHC, x10)

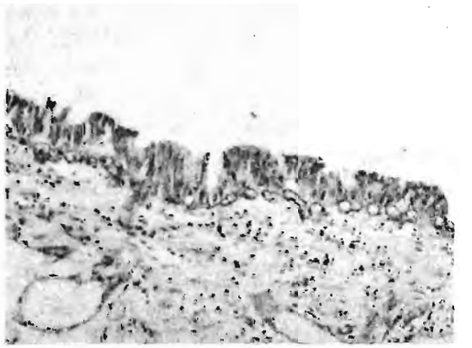


Fig. 10. Chronic cholecystitis with moderate dysplasia, capillaries arranged "in beads" (IHC, x10)

Fig. 11. Pleomorphic adenocarcinoma, peritumoral CD34 positive vessels (IHC, x10)

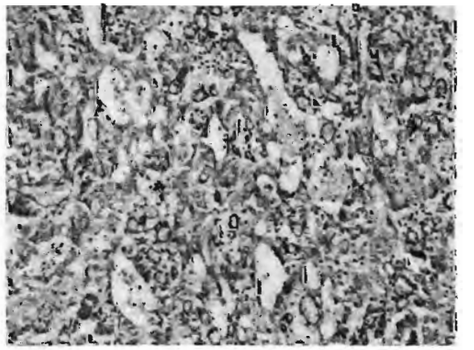


Fig. 12. Pleomorphic adenocarcinoma, intratumoral CD34 positive vessels (IHC, x10)

All 5 carcinoma cases (100%) were Ki-67 positive with different intensities of the reaction and variations in the proliferation index. In well-differentiated adenocarcinoma, Ki-67 presented positive reaction (3 on a scale from 0 to 4) with a 70% Ki-67 index. In the mucosa adjacent to the tumoral proliferation pyloric metaplasia aspects were noticed. Here the expression of Ki-67 was also positive (4 a scale from 0 to 4), revealing an important proliferative activity (90% Ki-67 index) (fig. 3). In moderately differentiated adenocarcinomas, the expression of Ki-67 was very intense (4 a scale from 0 to 4) with a proliferation index of 70% and 80%, respectively (fig. 4). In the undifferentiated adenocarcinoma, with an important parietal infiltration, Ki-67 labeled strongly almost all the nuclei of the tumoral cells (4 on a scale of 0 to 4), the Ki-67 index being 90% (fig. 5). The IHC reaction was heterogeneous in a pleomorphic case where, next to undifferentiated areas, papillary territories and mucous secreting zones are present. In the low-differentiated areas, the expression of Ki-67 was intensely positive (4 from a scale of 0 to 4), with 90% activity index. In the papillary zones the reaction was also intensely positive (4 from a scale of 0 to 4) with a 50% Ki-67 index (fig. 6) and in the mucous areas the reaction was moderate positive (3 on a scale from 0 to 4) with a 30% Ki-67 index.

p53

In all 10 chronic cholecystitis cases (100%), the surface epithelium and the pyloric metaplasia lesions were p53 negative. Mild dysplastic areas presented negative reaction (10-15%) (fig. 7) as opposed to the moderate and severe dysplastic territories, where the reactivity varied from 20% to 80%, respectively. The stain was determined as moderate in moderate dysplasia (2 on a scale from 0 to 4) and intense in severe dysplasia (3 on a scale of 0 to 4).

In all carcinoma cases we investigated (100%), the expression of p53 was positive from 30% to 100% with respect to the degree of differentiation of the carcinoma. In well-differentiated adenocarcinoma, p53 was intensely positive (4 on a scale of 0 to 4) in a proportion of 95% (fig. 8). There were also identified pyloric metaplasia areas adjacent to the malignant transformation, with positive p53 (3 on a scale of 0 to 4) in 40% from the nuclei. In the two cases of moderately differentiated adenocarcinoma the expression of p53 was positive (3 on a scale of 0 to 4) in a proportion of 80% and 100%, respectively. In undifferentiated adenocarcinoma, with cell pleomorphism, atypical nuclei and important parietal infiltration, p53 marked 30% of the tumoral cell nuclei (fig. 9). For the pleomorphic case we recorded different aspects, as follows: in low-differentiated areas, the expression of p53 was intensely positive (4 on a scale of 0 to 4), marking 50% of the nuclei (fig. 10/226); in the papillary zones the stain, also very intense (4 on a scale of 0 to 4), interested 30% of the nuclei and in the mucous zones the reaction was negative.

MDV

For the chronic cholecystitis, by the quantification of MVD, we recorded 5-9 vessels / field adjacent to the pyloric metaplasia zones and 10-20 vessels / field in severe dysplastic territories. We noted as a peculiar aspect the arrangement "in beads" of the capillaries located under the dysplastic epithelium (fig. 10).

The gallbladder carcinoma cases presented a MVD of 15-30 vessels / field, without being able to establish statistically significant correlations between MDV and the histologic type.

With respect to the microvascular distribution, we observed both peritumoral location (fig. 11) and intratumoral location (fig 12); small vessel networks were identified, developed adjacent to the vesseis with malign cells in the lumen.

DISCUSSIONS

In the principal mainstream there are hundreds of papers referring to the investigation of Ki-67, p53 and angiogenesis in different types of carcinoma. Nevertheless, similar studies dedicated to gallbladder carcinoma (and to the associated premalignant lesions) are relatively few, with small cases and diverging results. Within this context, the discussion section will focus on the comparison between the results obtained in our study and those from other research groups.

Ki-67

Ki-67 is believed to be the most adequate for the evaluation of the proliferative capacity, recommended by the reliability of the method. Because the proliferative activity of the tumoral cells represents only one of the factors influencing the behavior of tumors, Ki-67 used alone cannot offer sufficient prognostic information (3). This is why the literature presents results correlated with the investigation of other markers: TGBβ (33), p53, cyclin D1, p21, bcl2 or Mdm2 (23). The high Ki-67 index is significantly correlated with lymphatic and vascular invasion and has a predictive role for the precocious relapses developed after surgery for gallbladder carcinomas (1-3). The level of Ki-67 expression rises significantly from normal epithelia or benign lesions to precursor ones and cancer (3), but there was no significant difference between early cancer and advanced one (33).

Our results revealed the presence of Ki-67 in all 10 chronic cholecystitis (100%) and in all 5 carcinomas (100%). This percentage can be explained by the fact that the IHC investigated cases were intently selected on the basis of the associated premalignant lesions (for the chronic cholecystitis) and of the tumoral invasion pattern (for carcinomas). According to the literature data, we noted the rise in Ki-67 index from 10% in simple dysplasia associated with chronic cholecystitis to 20% in severe dysplasia associated with chronic cholecystitis up until 90% in carcinoma. The high values obtained, indicating an intense proliferative activity, coincided with the metastatic profile of the carcinomas. From the point of view of the intensity of the reaction, it was staged as intense and very intense, except for the mild dysplasia - where the intensity of coloration was moderate. We must stress the fact that, although we obtained different values for Ki-67 index in various carcinoma types, the small number of investigated cases did not permit the establishment of statistically significant correlations with the histologic type.

p53

Regarding the role of p53 in the pathogenesis of gallbladder carcinoma, Orth and Beger, in 2000 (36), sustained that the p53 gene mutation, related to increasing grade of atypical changes and invasiveness, intervenes in the development of new cancers, while carcinoma arising from pre-existing adenoma develops through a p53 gene-unrelated, as yet unknown alteration. The results obtained in the investigation of p53 on series of adenomas are controversial, the expression being either absent (6,7,13), either present in 17.6% of the cases (22). The data reported by Luzar et al. (37) accentuate the role of the dysplasia-carcinoma sequence, the molecular anomalies in dysplasia being similar to those in carcinoma and absent from gallbladder adenomas.

p53 is absent from normal epithelium (6,8,22), metaplastic (8,13) and mild dysplastic areas (7), but is present in approximately 30% of high degree dysplastic cases (6,8,20) and in 44.7% (8) and 86% (6) of carcinoma in situ. With respect to the peritumoral dysplasia there are reported as p53 positive 60% of cases (13), without significant differences in p53 expression in

premalignant lesions associated with invasive carcinoma and those that were not (6,8).

The results reported in literature indicate a wide range of values for the positive immunoreaction of p53 in carcinomas (20% (21), 39.6% (7), 48.1 (20), 55% (17), 58.3% (18), 59.1% (22), 61.9% (19), 64% (13), 65.4% (8), 92% (5,6)).

Yanagisawa et al., in 2000 (14), compares the expression of p53 (together with other molecular markers for cell proliferation and apoptosis) in chronic cholecystitis and gallbladder cancers. The obtained results show that in chronic cholecystitis the apoptotic index rises parallel with the inflammatory score, the correlation between the expression of p53 and the severity of chronic cholecystitis being suggestive for DNA injury. Similar data are obtained by da Rocha et al., in 2004 (18), approximately 10% of chronic cholecystitis cases, lithiasic and nonlithiasic, being p53 positive. In gallbladder cancers developed on chronic cholecystitis background the apoptotic index is statistically higher than in chronic cholecystitis (14); moreover, Ki-67 has an increased positive expression. Thus the mucosa of gallbladders with chronic cholecystitis is characterized by a rise in cellular turnover, the injured cells being eliminated through apoptosis (14).

p53 was studied in correlation with NOS-NO synthase and BAX, in benign and malignant diseases of the gallbladder (16). The expression of p53 was strong in adenocarcinoma, while the expression of NOS and BAX was low. The results indicate that both chronic cholecystitis and chronic cholecystitis associated with adenomioma present the risk of malignant transformation, seeing that there exists a relationship between the carcinogenesis process and apoptosis.

With the exception of the paper by Billo et al., in 2000 (13), detailing correlation between p53 and morphologic types of gallbladder carcinoma, other published research comment on the lack of statistically significant association between p53 and prognostic factors (type, histologic stage and survival) (8,18,22).

The results of our study reveal for p53 an IHC profile in concordance with the reports in the publication mainstream. In all 10 chronic cholecystitis cases p53 was negative in normal gallbladder epithelium, in metaplastic and mild dysplastic areas. The positive immunoreaction of p53 for 100% of chronic cholecystitis cases in moderate and severe dysplastic areas and for 100% of carcinomas can be explained as we commented with respect to Ki-67 through case selection manner. In dysplastic areas present in chronic cholecystitis, the positive immunoreaction of p53 increased from 20% (in moderate dysplasia) until 80% (in severe dysplasia). All carcinoma cases were p53 positive (100%), the expression differing from 30% in papillary carcinoma areas, 30-50% in undifferentiated carcinoma until 80-100% in well differentiated type. An aspect not concurring with the literature was signaled in one of the 5 cases of gallbladder carcinoma (well differentiated adenocarcinoma), where pyloric metaplasia territories adjacent to the malignant transformation were immunoreactive. Although this was an isolated aspect, the positive immunoreaction of p53 in metaplasia associated with malignant transformation could be interpreted in the context of the carcinogenic sequence metaplasia – dysplasia – neoplasia. The intensity of the reaction was very close from those of Ki-67, predominantly intense and very intense; however, it differed from Ki-67 in the negativity for mild dysplasia and moderate intensity for moderate dysplasia. The small number of carcinoma analyzed did not permit the evaluation of statistically significant correlation between the expression of p53 and histologic type.

MDV

Tumoral neovascularity, involved in tumoral growth, proliferation and metastases, has prognostic value and is correlated with the clinical outcome for many tumors. Nonetheless, the information focused on gallbladder pathology is very small. A study performed in 1999 by Sugawara et al. (38) claims that MDV has no prognostic value on its own and that the participation of neovascularity in gallbladder cancer is minor, especially during the early course. Another approach based on vascularity aspects in chronic cholecystitis by comparison with carcinoma (22) shows that MDV in the chronic cholecystitis tissues is significant lower than that in the gallbladder carcinoma. Recent studies (26) investigated in parallel MDV and the cyclooxygenase-2 expression establishing the existence of statistically significant correlations suggesting that the COX-2 induced increase in tumoral neovascularity has negative prognostic value in gallbladder carcinoma. The results obtained in our study are similar with the ones reported by (25), the values of MVD for gallbladder carcinoma (15-40 vessels / field) being very close to those obtained by (25) (9-46 vessels / field).

CONCLUSIONS

The investigation of Ki-67, p53 and MDV brings important data regarding the carcinogenesis process in the gallbladder, initiated on the background of a chronic cholecystitis. The dynamics in the values for Ki-67, p53 and MDV followed from premalignant lesions to carcinoma sustains the hypothesis of the metaplasia – dysplasia – carcinoma sequence.

The increase in Ki-67, p53 and MDV expression indicates a high degree of tumoral aggression and, consequently, an unfavorable prognosis.

REFERENCES

1. Takei K, Watanabe H, Itoi T, Saito T. p53 and Ki-67 immunoreactivity and nuclear morphometry of "carcinoma-in-adenoma" and adenoma of the gallbladder. *Pathol Intl* 1996; 46: 426-435.
2. Shrestha ML, Miyake H, Kikutsuji T, Tashiro S. Prognostic significance of Ki-67 and p53 antigen expression in carcinomas of bile duct and gallbladder. *J Med Invest* 1998; 45: 95-102.
3. Hui A-M, Shi Y-Z, Li X et al. Proliferative marker Ki-67 in gallbladder carcinomas: high expression level predicts early recurrence after surgical resection. *Cancer Lett* 2002; 176: 191-198.
4. Hanada K, Itoh M, Fujii K et al. Expression of the proliferative cell nuclear antigen (PCNA) in adenocarcinoma of the gallbladder, and its relationship to prognosis. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55: 377-382.
5. Teh M, Wee A, Raju GC. An immunohistochemical study of p53 protein in gallbladder and extrahepatic bile duct/ampullary carcinomas. *Cancer* 1994; 74: 1542-1545.
6. Wee A, Teh M, Raju GC. Clinical importance of p53 protein in the gallbladder carcinoma and its precursor lesions. *J Clin Pathol* 1994; 47: 453–456.
7. Ajiki T, Onoyama H, Yamamoto M et al. p53 protein expression and prognosis in gallbladder carcinoma and premalignant lesions. *Hepatogastroenterol* 1996; 43: 521-526.
8. Wistuba II, Gazdar AF, Roa I, Albores-Saavedra J. p53 protein overexpression in gallbladder carcinoma and its precursor lesions: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1996; 27: 360-365.
9. Hanada K, Itoh M, Fujii K et al. K-ras and p53 mutations in stage I gallbladder carcinoma with an anomalous junction of the pancreaticobiliary duct. *Cancer* 1996; 77: 452–458.
10. Itoi T, Watanabe H, Ajioka Y et al. APC K-ras codon 12 mutations and P-53 gene expression in carcinoma and adenoma of the gallbladder suggest two genetic pathways in gallbladder carcinogenesis. *Pathol Int* 1996; 46: 333–340.

11. Roa I, Villaseca M, Araya JC et al. DNA ploidy pattern and tumor suppressor gene p53 expression in gallblaldder carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 1997; 6: 547-550.
12. Tanno S, Obara T, Fujii T et al. Proliferative potential and K-ras mutation in epithelial hyperplasia of the gallbladder in patients with anomalous pancreaticobiliary duct union. *Cancer* 1998; 83: 267-275.
13. Billo P, Marchegiani C, Capella C, Sessa F. Expression of p53 in gallbladder carcinoma and in dysplastic and metaplastic lesions of the surrounding mucosa. *Pathologica* 2000; 92: 249-256.
14. Yanagisawa N, Mikami T, Koike M, Okayasu I. Enhanced cell kinetics, p53 accumulation and high $p21^{WAF-1}$ expression in chronic cholecystitis: comparison with background mucosa of gallbladder carcinomas. *Histopathol* 2000; 36: 54-61.
15. Misra S, Chaturvedi A, Goel MM et al. Overexpression of p53 protein in gallbladder carcinoma in North India. *Eur J Surg Oncol* 2000; 26: 164-167.
16. Zhang M, Pan JW, Ren TR et al. Correlated expression of inducible nitric oxide synthase and p53, Bax in benign and malignant diseased gallbladder. *Ann Anat* 2003; 185: 549-554.
17. Koda M, Yashima K, Kawaguchi K et al. Expression of Fhit, Mlh1, and P53 protein in human gallbladder carcinoma. *Cancer Lett* 2003; 199: 131-138.
18. da Rocha AO, Coutinho LM, Scholl JG, Leboutte LD. The value of p53 protein expression in gallbladder carcinoma: analysis of 60 cases. *Hepatogastroenterol* 2004; 51: 1310-1314.
19. Chuang SC, Lee KT, Tsai KB et al. Immunohistochemical study of DPC4 and p53 proteins in gallbladder and bile duct cancers. *World J Surg* 2004; 28: 995-1000.
20. Legan M, Luzar B, Marolt VF, Cor A. Expression of cyclooxygenase-2 is associated with p53 accumulation in premalignant and malignant gallbladder lesions. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3425-3429.
21. Chaube A, Tewari M, Garbyal RS et al. Preliminary study of p53 and c-erbB-2 expression in gallbladder cancer in Indian patients manuscript id: 8962091628764582. *BMC Cancer* 2006; 6: 126.
22. Wang SN, Chung SC, Tsai KB et al. Aberrant p53 expression and the development of gallbladder carcinoma and adenoma. *Kaohsiung J Med Sci* 2006; 22: 53-59.
23. Jarnagin WR, Klimstra DS, Hezel M et al. Differential cell cycle-regulatory protein expression in biliary tract adenocarcinoma: correlation with anatomic site, pathologic variables, and clinical outcome. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1152-1160.
24. Nakashima T, Kondoh S, Kitoh H et al. Vascular endothelial growth factor-C expression in human gallbladder cancer and its relationship to lymph node metastasis. *Int J Mol Med* 2003; 11: 33-39.
25. Wang J, Dou KF, Zhao R. Expression of P62 in gallbladder carcinoma tissues and its correlation with angiogenesis. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2004; 20: 461-464.
26. Legan M, Luzar B, Ferlan-Marolt V, Cör A. Cyclooxygenase-2 expression determines neoangiogenesis in gallbladder carcinomas. *Bosn J Basic Med Sci* 2006; 6: 58-63.
27. Tanaka S, Tanaka H, Yamamoto T et al. Immunohistochemical demonstration of c-Kit protooncogene product in gallbladder cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13: 228-234.
28. Duval JV, Savas L, Banner BF. Expression of cytokeratins 7 and 20 in carcinomas of the extrahepatic biliary tract, pancreas, and gallbladder. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 1196-1200.
29. Cabibi D, Licata A, Barresi E et al. Expression of cytokeratin 7 and 20 in pathological conditions of the bile tract. *Pathol Res Pract* 2003; 199: 65-70.
30. Katayama N, Murao S, Ajiki T et al. The role of S100A4 gene encoding an S100-related calcium-binding protein in human bile duct adenocarcinoma cell lines: correlation of S100A4 expression and invasive growth in matrigel matrix. *Int J Mol Med* 2000; 6: 539-542.
31. Nakamura T, Ajiki T, Murao S et al. Prognostic significance of S100A4 expression in gallbladder cancer. *Int J Oncol* 2002; 20: 937-941.
32. Puhalla H, Herberger B, Soleiman A et al. E-cadherin and beta-catenin expression in normal, inflamed and cancerous gallbladder tissue. *Anticancer Res* 2005; 25: 4249-4254.
33. Kitamura K, Kasuya K, Tsuchida A et al. Immunohistochemical analysis of transforming growth factor beta in gallbladder cancer. *Oncol Rep* 2003; 10: 327-332.

34. Zhou YM, Li YM, Cao N et al. Significance of expression of epidermal growth factor (EGF) and its receptor (EGFR) in chronic cholecystitis and gallbladder carcinoma. *Ai Zheng* 2003; 22: 262-265.
35. Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis: correlation in ivasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 324: 1-8.
36. Orth K, Beger HG. Gallbladder carcinoma and surgical treatment. *Langenbecks Arch Surg* 2000; 385: 501-508.
37. Luzar B, Poljak M, Cor A et al. Expression of human telomerase catalytic protein in gallbladder carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2005; 58: 820-825.
38. Sugawara Y, Makuuchi M, Harihara Y et al. Tumor angiogenesis in gallbladder carcinoma. *Hepatogastroenterol* 1999; 46: 1682-1686.

NOUTĂŢI

EFECTUL ADVERS AL INFECŢIEI PRETRANSPLANT CU BK POLYOMA VIRUS ASUPRA RINICHIULUI TRANSPLANTAT

În transplantul renal, virusul polyoma BK este considerat un factor important de afectare acută şi cronică a allografei, reactivarea unei infecţii latente fiind rezultatul scăderii imunităţii mediate celular, prin tratament imunosupresor. Incluziile virale BK pot fi identificate în frotiuri urinare, în nucleul celulelor uroteliale infectate – denumite celule "decoy". Studiul realizat porneşte de la ipoteza reactivării BKV în tractul urinar al pacienţilor cu insuficienţă renală, cu impact în funcţia allografei, posttransplant. Prezenţa celulelor "decoy" a fost urmărită la un lot format din 68 de pacienţi cu insuficienţă renală cronică în stadiu final şi din donorii corespunzători. Metodologia de lucru a inclus coloraţia Papanicolaou pentru frotiurile urinare, imunohistochimie pentru biopsii şi PCR pentru confirmarea prezenţei ADN-ului viral. Celulele "decoy" au fost detectate la 22 de pacienţi şi la 4 donori. Toţi cei 22 de pacienţi au continuat eliminarea celulelor "decoy" şi după transplant, acestora adăugându-li-se doi pacienţi noi. Aceşti 24 de pacienţi au avut mult mai frecvent episoade de disfuncţie a grefei şi valori crescute ale creatininei serice. 33% din pacienţii din grupul BKV pozitiv au dezvoltat insuficienţă renală cronică – stadiu final, în comparaţie cu numai 11%, din grupul BKV negativ. Nefropatia cu BKV a fost demonstrată histologic în 7% din cazuri, toate prezentând celule "decoy" în frotiuri. Autorii concluzionează că reactivarea infecţiei latente BKV poate să apară în insuficienţa renală cronică şi conferă un risc crescut pentru instalarea disfuncţiei grefei, post-transplant. Mecanismul prin care se instalează disfuncţia grefei la pacienţii care elimină celule "decoy", dar care nu dezvoltă nefropatie asociată BKV necesită însă studii suplimentare (Hayat A, Mukhopadhyay R, Radhika S et al. Adverse impact of pretransplant polyoma virus infection on renal allograft function. *Nephrol* 2007; doi: 10.1111/j.1440-1797.2007.00861.x)

Irina-Draga Căruntu

EFECTELE COMPARATIVE ALE NICHELULUI ŞI MAGNEZIULUI ASUPRA RINICHIULUI DE ŞOBOLAN TRATAT EXPERIMENTAL CU ACID RETINOIC

M.D. Scutariu, Corina Ciupilan
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
Disciplina de Anatomie şi Fiziologie

NICKEL AND MAGNESIUM EFFECTS ON RETINOIC ACID EXPERIMENTALY TREATED RAT KIDNEY (Abstract): Magnesium and nickel are ions with an improtant role in the human body, but their effects are not completely understood. **Aim**: To clarify the actions of magnesium and nickel on the rat kidney, which was experimentally treated with retinoic acid, an important therapeutic agent. **Material and method**: The first lot of animals was the witness lot and didn't receive any substance. The second lot received retinoic acid, 50 mg/kg weight/day for 30 days. The third lot received retinoic acid in the same way and magnesium acexamate, 0.5 mEq /kg weight/day for 30 days. The fourth lot received retinoic acid in the same way and $NiCl_2$, 0.5 mEq /kg weight/day for 30 days. **Results**: The retinoic acid has a toxic effect on the rat kidney. The magnesium decreases this toxic effect but the nickel increases this toxic effect and distroys some uriniferous tubes. **Key words**: RETINOIC ACID, MAGNESIUM, NICKEL, RAT KIDNEY

Nichelul şi magneziul sunt ioni care au fost mult studiaţi (1), în special nichelul prin efectele sale alergene sau teratogene (2,3). Cu toate acestea efectele lor, la doze de administrare mare, sunt departe de a fi cunoscute. De aceea studiul nostru îşi propune să clarifice unele aspecte legate de acţiunea comparativă a acestor substanţe asupra rinichiului de şobolan tratat experimental cu acid retinoic. Acidul retinoic este un derivat al vitaminei A destul de utilizat în practica medicală, precum şi cunoscut agent teratogen (4,5) acestea fiind motivele pentru care a fost luat în studiu.

MATERIAL ŞI METODĂ

Pentru studiul apariţiei despicăturilor labio-palatine am utilizat loturi de şobolani Wistar, cu greutate cuprinsă între 200 şi 250 grame. Fiecare lot era alcătuit din 10 şobolani. Animalele au fost menţinute în condiţii standard de laborator şi au primit aceeaşi hrană, care să le asigure suportul caloric, de vitamine şi minerale.

Lotul A a fost lot martor şi nu a primit nici o substanţă.

Lotul B a primit acid retinoic, derivat al vitaminei A. Fiecare animal a primit 50 mg acid retinoic/kg corp/zi, administrare intraperitoneală, doză unică pe zi, timp de 30 de zile.

Lotul C de şobolani a primit acid retinoic, aceeaşi doză şi acelaşi mod de administrare plus acexamat de magneziu, doză 0,5 mEq/kg corp/zi, administrare intraperitoneală, doză unică pe zi, acexamatul de magneziu fiind administrat cu o oră înainte de administrarea acidului retinoic.

Lotul D de şobolani a primit acid retinoic, aceeaşi doză şi acelaşi mod de administrare ca la lotul B plus clorură de nichel, doză 0,5 mEq/kg corp/zi, administrare intraperitoneală, doză unică pe zi, clorura de nichel fiind administrată cu o oră înainte de administrarea acidului retinoic.

După o lună de experiment toate animalele au fost anesteziate cu Pentotal şi sacrificate prin secţionarea carotidelor. De la fiecare animal sacrificat s-au recoltat rinichii pentru a se realiza examinarea histopatologică a acestor organe. Organele recoltate au fost fixate în formol 15%, incluse la parafină, făcându-se apoi secţiuni seriate longitudinale la distanţă de 50 microni, secţiuni cu grosime de 4 microni, care s-au colorat apoi prin tehnicile: hematoxilin-eozină, PAS, Szekely, coloraţia lui Gordon Sweat pentru reticulină (6).

REZULTATE

Lotul martor, care nu a primit nici o substanţă, a prezentat o structură normală a rinichiului (fig. 1).

Lotul B a primit acid retinoic. Rinichiul de şobolan a prezentat mai multe modificări histopatologice. Ceea ce se constată în primul rând este uşoara retracţie a glomerulilor la nivelul capsulei Bowman (fig.2).

La nivelul tubilor urinari se constată o uşoară dilatare a capilarelor sanghine şi micşorarea lumenelor tubilor urinari. Magnificaţia superioară (x 20) ne prezintă accentuat această dilatare a vaselor capilare (fig. 3).

Unii tubi urinari prezintă o îngustare a

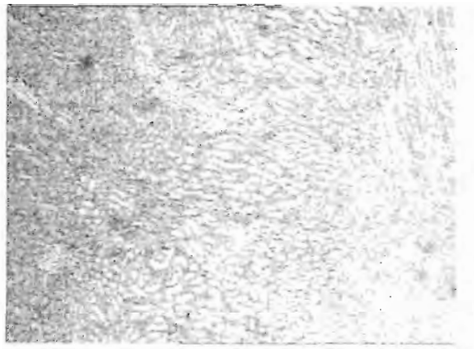


Fig. 1. Rinichi - lotul martor cu structură normală a tubilor urinari. Coloraţie HE x10

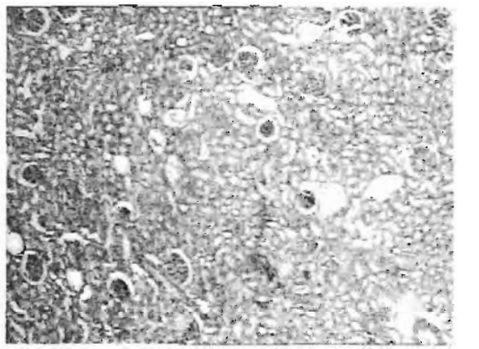


Fig. 2. Rinichi de şobolan din lotul B cu uşoară retracţie glomerulară. Coloraţie HE x10

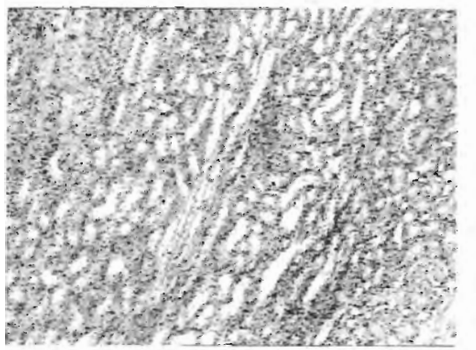


Fig. 3. Rinichi de şobolan din lotul B. Se constată dilatarea vaselor capilare. Coloraţie HE x20

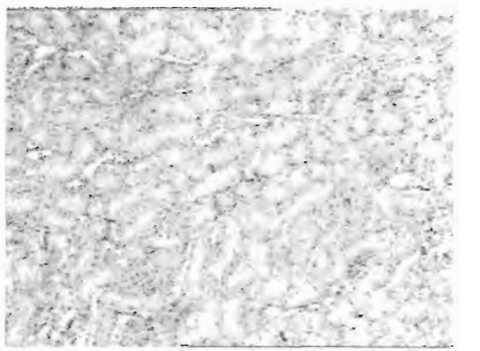


Fig. 4. Rinichi de şobolan din lotul B, cu îngustarea lumenului tubilor urinari. Coloraţie HE x20

lumenului, prin creşterea de volum a celulelor tubilor, uneori lumenul fiind complet obstruat (fig. 4).

Coloraţiile speciale evidenţiază elementele constatate pe coloraţiile HE şi anume retracţia glomerulilor şi îngustarea tubilor urinari (fig. 5).

Lotul C de şobolani a primit acid retinoic şi acexamat de magneziu. Rinichiul şobolanilor din lotul C prezintă o uşoară diminuare a alterărilor renale în comparaţie cu lotul B. Se remarcă uşoara retracţie a glomerulilor la nivelul capsulei Bowman, element evidenţiat şi de coloraţiile speciale (fig. 6). Tubii urinari prezintă aceleaşi alterări remarcate la lotul B: vasodilataţie şi îngustarea tubilor urinari, dar mai atenuate (nu s-a mai constatat obstruarea completă a tubilor urinari).

Lotul D de şobolani a primit acid retinoic şi clorură de nichel. Modificările induse de acidul retinoic sunt accentuate de către nichel. În primul rând retracţia glomerulară este accentuată, uneori însoţită şi de microhemoragii şi de modificarea conturului capsulei Bowman (fig. 7).

În ceea ce priveşte tubii urinari, vasodilataţia este accentuată, iar îngustarea lumenului tubilor urinari este aproape completă. Unii tubi au epiteliul tubular distrus, iar lumenul lor este ocupat de un material eozinofil şi de hematii (fig. 8).

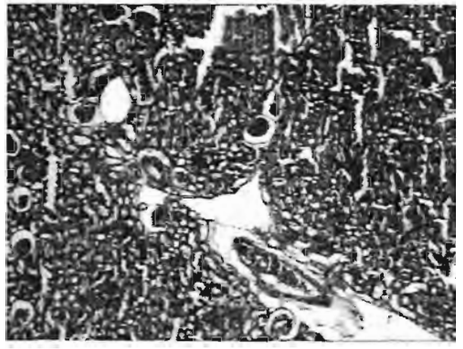


Fig. 5. Rinichi de şobolan din lotul B, cu evidenţierea retracţiei glomerulilor şi îngustarea lumenului tubilor urinari. Reticulină x10

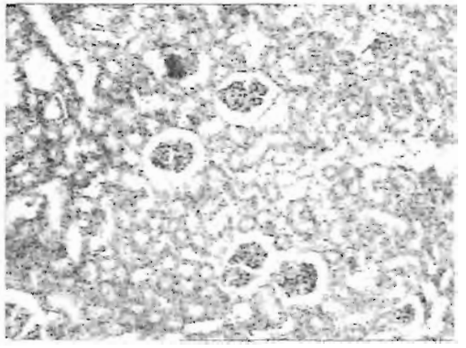


Fig. 6. Rinichi de şobolan din lotul D. Coloraţie PAS x20

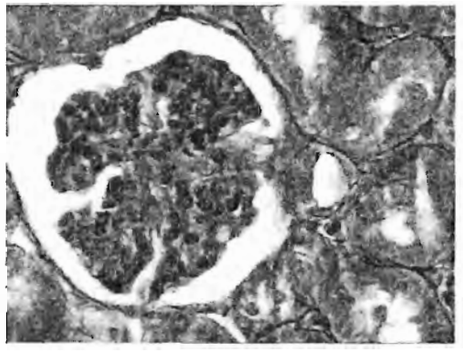


Fig. 7. Rinichi de şobolan din lotul D – se remarcă glomerulul retractat cu modificarea conturului capsulei Bowman. Reticulină x100 (imersie)

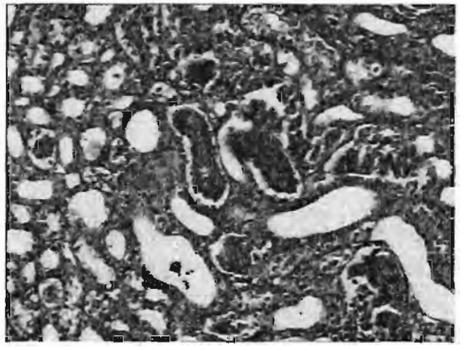


Fig. 8. Rinichi de şobolan din lotul D. Tubi urinari cu epiteliul distrus şi cu lumenul obstruat. Coloraţie Szekely x40

Aceste elemente ar putea duce la ideea că această combinaţie de acid retinoic şi clorură de nichel eliminându-se prin rinichi ar avea un efect toxic asupra epiteliului tubular sau din combinaţia acidului retinoic cu clorura de nichel ar rezulta un metabolit cu eliminare urinară, cu acelaşi efect toxic asupra epiteliului tubular (7).

CONCLUZII

Acidul retinoic are un efect toxic asupra rinichiului de şobolan dacă este administrat mai mult timp şi în doză mare, efectul toxic manifestându-se prin retracţie glomerulară, vasodilataţie la nivelul capilarelor renale şi îngustarea lumenului tubilor urinari, uneori cu obstrucţia lor completă.

Magneziul prin forma sa de administrare (acexamatul de magneziu) modulează în sens pozitiv acţiunea acidului retinoic, în sensul reducerii retracţiei glomerulare şi a îngustării lumenului tubilor urinari (nu se mai constată obstrucţia completă).

În schimb nichelul potenţează efectele negative ale acidului retinoic: creşte retracţia glomerulară şi uneori distruge epiteliul tubilor urinari. Lumenul tubilor urinari este ocupat de un material eozinofil (rezultat probabil din distrugerea epitelală) şi de hematii.

De aici se poate trage concluzia că această combinaţie de acid retinoic şi nichel eliminându-se prin rinichi ar avea un efect toxic asupra epiteliului tubular sau din combinaţia acidului retinoic cu clorura de nichel ar rezulta un metabolit cu eliminare urinară, cu acelaşi efect toxic asupra epiteliului tubular.

BIBLIOGRAFIE

1. Nechifor M., Indrei A, Mîndreci I, Cocu F, Negru S. Magnesium, manganese and copper influence on PGF2a analogues - induced luteolysis in rats. In: Cser MA, Sziklai Laszlo I, Etienne JC et al. editors. *Metal Ions in Biology and Medicine*. vol. 8. Paris: John Libbey Eurotext, 2004, 385-389.
2. Indrei A, Indrei LL, Zamfir C, Păduraru D, Nechifor M. The influence of the cation Ni^{2+} on the rat gastric mucosa. *Arch Balkan Medical Union* 2000; 35: 63-64.
3. Indrei LL, Indrei A, Zamfir CL, Petreuş T, Nechifor M. The influence of nickel excess administration on rats. In: *Mengen und Spuren-Elemente, Workshop 23*. Leipzig: Schubert – Verlag, 2006, 533–537.
4. Buitendijk S, Bracken MB. Medication in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1991, 165: 33-57.
5. Shepard TH. *Catalog of Teratogenic Agents*. 7th ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1992, 213–245.
6. Ross MH, Lynn JR, Gordon IK. *Histology - A Text and Atlas*. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995, 7–45.
7. Kumar V, Abbas A, Fausto N. *Pathologic Basis of Disease*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005, 955-972.

BINOMUL DIABET ZAHARAT-BOALĂ PARODONTALĂ FACTORI ETIOLOGICI ŞI DE RISC

Liliana Foia[1], Vasilica Toma[2], Didona Ungureanu[1], Carmen Aanei[3], M. Costuleanu[4]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
1 Departamentul de Biochimie
2 Departamentul de Pedodonţie
3 Departamentul de Imunologie
4 Departmentul de Fiziopatologie

BINOMINAL RELATIONSHIP DIABETES MELLITUS-PERIODONTAL DISEASE: ETHIOLOGICAL AND RISK FACTORS (Abstract): The interrelation between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease has been intensively studied for more than 50 years, a real bidirectional influence existing between patient's glycemic level disorder and periodontal territories alteration. Several studies developed in this direction emerged to the evidences that reveal a general increase of prevalence, extent and severity of gingivitis and periodontitis. Inflammation plays an important role in this interrelation, orchestrating both the periodontal disease and diabetes mellitus pathogeny and complications. Conversely, periodontal disease- infectious disease characterized by a significant inflammatory component- can seriously impair metabolic control of some diabetic patient. Moreover, treatment of periodontal disease and reduction of oral signs of inflammation may have a beneficial result on the diabetic condition (1). Less clear are the mechanisms governing this interrelation (even the literature is abundant in this direction), and, very probably, periodontal diseases serve as initiators or propagators of insulin resistance (in a way similar to obesity), thereby aggravating glycemic control. Further research is so imposed in order to clarify this aspect of the relationship between diabetes and periodontal disease. **Key words**: RISK FACTORS, PERIODONTAL DISEASE, DIABETES MELLITUS

Interrelaţia diabet zaharat-boală parodontală este cunoscută, intens studiată şi mediatizată de peste 50 de ani, existând o adevărată influenţare bidirecţională între afectarea nivelului glicemic al unui pacient şi alterarea teritoriilor parodontale. Studiile dezvoltate în această direcţie au relevat, fără echivoc, faptul că diabetul zaharat se asociază cu un nivel semnificativ crescut al prevalenţei, severităţii şi gradului de extindere al gingivitelor, şi parodontitelor în general. Inflamaţia joacă un rol determinant în această interrelaţie, ea orchestrând atât boala parodontală cât şi patogenia diabetului zaharat şi a complicaţiilor acestuia. Invers, boala parodontală (proces infecţios caracterizat printr-o componentă inflamatorie semnificativă), poate afecta la rîndul său controlul metabolic al bolnavului diabetic. Mai mult decât atat, tratamentul eficient al situsurilor parodontale afectate, cu reducerea semnificativă a inflamaţiei ţesuturilor orale, determină îmbunătăţirea condiţiei bolnavului diabetic (1). Mecanismele acestei interrelaţii (deşi abundente în literatura de specialitate) sunt insuficient elucidate. Foarte probabil, afectarea parodontală iniţiază sau induce promovarea rezistenţei la insulină (într-o manieră asemănătoare cu cea dezvoltată în condiţii de obezitate), cu agravarea ulterioară a controlului glicemic. Se impune aşadar o largă cooperare mondială în clarificarea interrelaţiilor între bolile parodontale şi afectarea prin diabet zaharat.

FACTORI ETIOPATOGENICI

Cavitatea orală este un izvor continuu de agenţi infecţioşi şi produşi ai acestora (peste 350 de specii), care pot accede direct la nivelele subjacente, de aceea condiţia acestui mediu reflectă adesea potenţialul de progresie spre o condiţionare şi patologie sistemică. Cu excepţia unor cazuri de sindroame asociate sau abces odontogen, infecţile orale erau considerate strict localizate la nivelul cavităţii orale. Locul acestor considerente a fost luat în prezent de un concept nou care priveşte mult mai atent statusul cavităţii orale şi impactul acestuia asupra stării de sănătate sau a alterărilor sistemice.

Etiopatogenia afectării parodontale este extrem de complexă, reflectand o combinaţie între iniţierea şi menţinerea inflamaţiei cronice prin diverşi factori microbieni cauzali şi produşii lor. Aproximativ 20 de specii bacteriene din cele peste 300 care populează cavitatea orală au fost recunoscute ca fiind asociate cu boala parodontală (2). Germenii orali, precum şi produşii lor de metabolism, toxine, celule degradate, pot penetra mai mult sau mai puţin direct) ţesuturile profunde, extinzandu-şi potenţialul de patogenitate la nivel sistemic, îndeosebi la indivizii cu susceptibilitate la boala parodontală.

Răspunsul gazdei la invazia microbiană şi a produşilor acestora mediază iniţierea şi propagarea unor evenimente complexe de distrucţie tisulară, desfăşurate în forma unor cascade extrem de complexe. Dealtfel, este binecunoscut faptul că, deşi necesare în iniţierea stării de boală, microorganismele nu reprezintă un criteriu suficient în progresia bolii, în absenţa răspunsului imun asociat. Invers, deşi răspunsul gazdei şi factorii de mediu implicaţi în modularea acestui răspuns sunt esenţiali în manifestarea stării de boală, nici gingivitele şi nici parodontitele nu debutează în absenţa germenilor microbieni (3).

Conceptul de susceptibilitate la boala parodontală a aparut în timp, odată cu rezultatele cercetării în domeniu şi care evidenţiau, conform statisticilor populaţionale, modificări continue ale prevalenţei şi severităţii alterării parodontale. În acest fel s-a conturat idea că indivizii nu pot fi consideraţi egali în ceea ce priveşte potenţialul de dezvoltare al unei afecţiuni parodontale. Există numeroşi factori adiţionali care contribuie la complexitatea desfăşurării acestei afecţiuni la nivel oral, inclusiv un număr de boli sistemice, şi în mod particular diabetul zaharat. Aceasta din urmă poate amplifica răspunsul gazdei la factorii microbieni (de ex. endotoxine, lipopolizaharide), cu distrucţie masivă parodontală.

FACTORI DETERMINANŢI ŞI FACTORI DE RISC ÎN BOALA PARODONTALĂ

Factorii de risc se definesc ca şi aspecte comportamentale, obiceiuri de viaţă, factori de mediu sau moşteniţi genetic, strâns asociaţi fenomenului de boală (4). *Indicatorii de risc* sunt potenţiali factori de risc care necesită studii clinice complementare pentru a fi confirmaţi ca factori reali în dezvoltarea unor afecţiuni (5). *Markerii de risc* (sau predictori de boală) sunt agenţi care nu cauzează boala prin ei inşişi, dar care atunci cand sunt prezenţi, indică o probabilitate înaltă a apariţiei şi desfăşurării bolii. În medicină, toţi aceşti indicatori, factori şi markeri de boală sunt deosebit de utili în diagnosticul şi predicţia riscului diferitelor afecţiuni.

Markerii de diagnostic trebuie să înde-

plinească anumite condiţii, şi îndeosebi să poată fi utili în realizarea unor teste cu specificitate şi sensibilitate înaltă, uşor de investigat şi, mai ales, care să poată evidenţia existenţa bolii înainte ca simptomatologia clinică să fie necontrolabilă (6). Paleta de parametri biologici propusă în cazul bolii parodontale ca markeri de risc, nu a fost confirmată în totalitate prin studiile longitudinale desfăşurate în această direcţie.

La nivel mondial, bolile parodontale sunt cunoscute ca cele mai extinse afecţiuni inflamatorii, reprezentând un grup de maladii ce afectează gingia şi ulterior ţesutul conjunctiv: cement, ligament parodontal, os alveolar. Bolile parodontale sunt cauza majoră a pierderii de ţesut dentar la adult, şi cuprind: *gingivitele - inflamaţii localizate, frecvente la copil şi adolescent, şi *parodontitele - caracterizate prin extinderea infiltratului inflamator către ţesuturile subjacente mucoasei gingivale, formare de pungi parodontale şi eventual pierdere de os alveolar (7). Rapoartele ultimilor ani referitoare la prevalenţa formelor severe de parodontită indică procente îngrijorătoare, cuprinse între 10-15% în majoritatea populaţiilor (8).

1. MICROBIOTA ORALĂ, PLACA BACTERIANĂ, IGIENA ORALĂ

Interrelaţia igienă orală-boală parodontală nu este prea clar definită, putând mai degrabă evoca o corelaţie igienă orală-gingivită. Studiile epidemiologice dezvoltate în această direcţie nu converg în favoarea unei relaţii de strictă interdependenţă între igiena orală şi boala parodontală. Astfel, în ţările lumii a treia de exemplu, în ciuda faptului că studiile populaţionale semnalează nivele crescute de pierdere a ataşamentului parodontal, comparativ cu ţările vest-europene, igiena orala defectuasă şi consecutiv gingivita în aceste populaţii, avansează rar către parodontită (9). Toate acestea sugerează încă o dată rolul important pe care-l joacă, alături de microorganismele cauzatoare, răspunsul imunoinflamator al gazdei. Astfel se explică şi faptul că nu întotdeauna identificarea unei infecţii semnifică predicţia bolii parodontale.

Bacteriile patogene sunt acele microorganisme care induc dezvoltarea bolii. Anumite bacterii precum *Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsytus*, sunt implicate în afectarea parodontală, fără însă ca simpla lor prezenţă în mediul bucal să indice faptul că pacientul este un potenţial candidat la boală parodontală. Cele mai multe studii arată dealtfel, o slabă corelare între nivelul de placă bacteriană, tartrul supragingival şi nivelul de severitate al parodontitei (10).

2. FUMATUL

Studiile epidemiologice derulate pe o perioadă de cinci ani în Statele Unite ale Americii au arătat o asociere semnificativă între fumat şi boala parodontală, independent de vârstă, igienă orala sau oricare alţi factori. Fumatul poate fi asociat nu numai cu riscul de a dezvolta boală parodontală, dar poate afecta într-o proporţie variabilă eficienţa tratamentului parodontal. Studiile recente arată de asemenea asocierea acestui obicei habitual cu eşecul înregistrat în realizarea unor implante orale, precum şi probabilitatea mai mare de a dezvolta boala parodontală la fumătorii activi sau foştii fumători (comparativ cu cei care nu au fumat niciodată) (11). Mai mult decât atât, întreruperea fumatului poate reinstaura răspunsul normal de reparaţie a ţesutului parodontal, cu întârzierea sau revocarea progresiei pierderii osoase (12).

Studiile clinice relevă lipsa diferenţelor majore în prevalenţa anumitor specii bacteriene patogene în populaţia fumătoare comparativ cu cea nefumătoare, în schimb, datele referitoare la acumulările de placă sunt contradictorii, unii raportând cantităţi

mai mari la fumători (12), în timp ce alţii nu semnalează diferenţe semnificative (13).

Fumatul este însă responsabil de formarea unor pungi mai adanci, cu pierdere semnificativă de os (14), având se pare şi efecte nocive asupra funcţiei leucocitelor neutrofile şi alterarea consecutivă a răspunsului imun al organismului gazdă (15).

Concluziile care se desprind din studiile referitoare la influenţa fumatului asupra teritoriului parodontal, converg către necesitatea instruirii pacienţilor din cabinetul stomatologic asupra riscurilor la care sunt expuşi prin folosirea acestui obicei: cancer oral, boală parodontală sau dificultăţi în ameliorarea acesteia.

3. BOLILE SISTEMICE - DIABETUL ZAHARAT

Diabetul zaharat şi bolile parodontale sunt afecţiuni cronice relativ comune în populaţia europeană şi îndeosebi în cea a Statelor Unite ale Americii. Există numeroase corelaţii biologice, iar cele mai comune mecanisme care par a fi implicate în acest binom diabet-boală parodontală includ: *modificări ale componentelor fluidului crevicular, *boli ale teritoriului microvascular, *glicozilări nonenzimatice ale unor proteine, *predispoziţia genetică în unele subpopulaţii, * modificări ale florei subgingivale, * răspuns deficitar al gazdei, *modificări ale metabolismului colagenului (16).

Ambele maladii împărtăşesc o patogeneză relativ asemănătoare, ce implică un răspuns inflamator relativ agresiv, atât la nivel local cât şi sistemic. Acesta este în mare parte cauzat de efectele cronice ale hiperglicemiei şi în mod particular, de sinteza specifică a proteinelor glicozilate şi a lipidelor active care promovează acest răspuns inflamator (17). Produşii bacterieni precum endotoxinele sau lipopolizaharidele joacă de asemenea un rol definitoriu în propagarea răspunsului inflamator mediat de receptori la nivelul ţesuturilor gazdei (18). Aceşti receptori modulează activităţi importante din cadrul cascadei evenimentelor răspunsului imun, în mod particular în cadrul interacţiunii între microorganismele patogene şi monocitele fagocitare (19).

Celulele afectate în răspunsul inflamator din diabet şi boala parodontală cuprind nu numai monocitele, dar şi neutrofilele şi macrofagele. Statusul funcţional al polimorfonuclearelor - celule aflate în prima linie de apărare - este afectat în ceea ce priveşte aderenţa, chemotaxia, fagocitoza. Inhibarea sau dereglarea funcţiilor acestora împiedică distrugerea microorganismelor din pungile parodontale, cu extinderea ulterioară a gradului de afectare parodontală (20). Studiile in vitro realizate pe linii monocitare provenite de la pacienţi cu diabet zaharat indică un fenotip aparte, cu hiperexpresie a unora dintre mediatorii proinflamatori (de tip interleukina 1β, factorul de necroză tumorala α, prostaglandina E2) (21). Mai mult, studiile similare *in vivo* efectuate pe loturi de pacienţi cu diabet şi alterare parodontală, relevă nivele semnificativ crescute a markerilor inflamatori locali, comparativ cu cele înregistrate la indivizii fără afectare sistemică (22).

Diabetul zaharat reprezintă unul din factorii de risc pentru boala parodontală, ameninţarea fiind cu mult mai serioasă îndeosebi la cei cu valori slab controlate sau necontrolate ale nivelului glicemic (23). Există numeroase modificări fiziopatologice ce apar în sfera orală, la pacienţii cu diabet: alterări microvasculare ale gingiei (similar cu cele din alte organe), alterări ale membranei bazale vasculare cu deficienţe în oxigenarea tisulară. De asemenea, există o dereglare a funcţiei neutrofilelor, cu ineficienţa acestora în îndepărtarea bacteriilor invazive, şi care explică distrucţiile severe în teritoriul parodontal la bolnavii cu diabet (24).

Fibrele de colagen, cele mai abundente proteine ale ţesutului conjunctiv (inclusiv

gingie, os alveolar, ligament, cement), cunosc în mod normal un adevărat turnover, prin care, fibrele vechi sunt permanent reînnoite cu altele noi. La bolnavii cu diabet se înregistrează un defect în acest echilibru, cu alterarea metabolismului colagenului şi consecutiv, instalarea distrucţiei parodontale.

CONCLUZIE

diabetul zaharat şi boala parodontală sunt afecţiuni cronice cu prevalenţă semnificativă şi similitudini în patobiologie. Inflamaţia reprezintă componenta determinantă în această asociere, un rol important având probabil şi antecedente de tip obezitate sau rezistenţa la insulină, pe care le traversează bolnavii de-a lungul anilor. Majoritatea datelor din literatură demonstrează creşterea prevalenţei şi severităţii bolilor parodontale la bolnavii cu diabet zaharat. Interpretarea mecanismelor care stau la baza acestor evidenţe este relativ dificilă, impunându-se desfăşurarea de studii aprofundate care să releve modul în care variaţiile răspunsului clinic în urma terapiei parodontale pot fi reflectate în absenţa sau nu a modificărilor controlului glicemic.

BIBLIOGRAFIE

1. Mealey BL, Oates TW. American Academy of Periodontology. Diabetes mellitus and periodontal diseases. *J Periodontol* 2006 ; 77 (8) : 1289-1303.
2. Theilade E. The experimental gingivitis studies : the microbiological perspective. *J Dent Res* 1996 ; 75 (7) : 1434-1438.
3. Offenbacher S. Periodontal diseases : pathogenesis. *Ann Periodontol* 1996 ; 1 (1) : 821-878.
4. Douglass C. Risk assessment for periodontal disease in adults. *The Oral Care Report* 1998 ; 8 (1) : 1-3.
5. Bain CA, Moy PK. The association between the failure of dental implants and cigarette smoking. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992 ; 8 : 609-615.
6. Bruno G. Loos, Stanley Tjoa. Host-derived diagnostic markers for periodontitis : do they exist in gingival crevice fluid ? *Periodontology 2000* 2005 ; 39 (1) : 53-72.
7. DeBruyn H, Collaert B. The effect of smoking on early implant failure. *Clin Oral Implants Res* 1994 ; 5 : 260-264.
8. Papanou PN. Periodontal diseases : epidemiologz. *Ann Periodontol* 1996 ; 1 : 1-36.
9. Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol* 1986 ; 13 : 431-445.
10. Ramfjord SP. Indices for prevalence and incidence of periodontal disease. *J Periodontol* 1959 ; 30 : 51-59.
11. Haber J, Wattles J, Crowley M et al. Evidence for cigarette smoking as a major risk factor for periodontitis. *J Periodontol* 1993 ; 64 : 16-23.
12. American Academy of Periodontology. Tobacco use and the periodontal patient *J Periodontol* 1996 ; 67 : 51-56. ,
13. Bergstrom J, Preber H. Tobacco use as a risk factor. *J Periodontol* 1994 ; 65 : 545-550.
14. Kenny EG, Kraal JH, Saxe SR, Jones J. The effect of cigarette smoke on human oral polymorphonuclear leukocytes. *J Periodont Res* 1977 ; 12 : 227-234.
15. Grossi SG, Zambon J, Machtei EE et al. Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *JADA* 1997 ; 128 : 599-607.
16. Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships : role of inflammation. *Ann Periodontol* 2001 ; 6 : 125-137.
17. Basta G, Lazzerini G, Del Turco S, Ratto GM, Schmidt AM, De Caterina R. At least 2 distinct pathways generating reactive oxygen species mediate vascular cell adhesion molecule-1 induction by advanced glycation end products. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005 ; 25 : 1401-1407.

18. Wittebole X, Coyle SM, Kumar A, Goshima M, Lowry SF, Calvano SE. Expression of tumour necrosis factor receptor and Toll-like receptor 2 and 4 on peripheral blood leucocytes of human volunteers after endotoxin challenge : a comparison of flow cytometric light scatter and immunofluorescence gating. *Clin Exp Immunol* 2005 ; 141 : 99-106.
19. Kirschning CJ, Wesche H, Merrill Ayres T, Rothe M. Human toll-like receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide. *J Exp Med* 1998 ; 188 : 2091-2097.
20. Manouchehr-Pour M, Spàgnuolo PJ, Rodman HM, Bissada NF. Comparison of neutrophil chemotactic response in diabetic patients with mild and severe periodontal disease. *J Periodontol* 1981 ; 52(8) : 410-415.
21. Molvig J, Baek L, Christensen P et al. Endotoxin-stimulated human monocyte secretion of interleukin 1, tumour necrosis factor alpha, and prostaglandin E2 shows stable interindividual differences. *Scand J Immunol* 1988 ; 27 : 705-716.
22. Salvi GE, Beck JD, Offenbacher S. PGE2, IL-1 beta, and TNF-alpha responses in diabetics as modifiers of periodontal disease expression. *Ann Periodontol* 1998 ; 3 : 40-50.
23. Soskoline WA. Epidemiological and clinical aspects of periodontal diseases in diabetics. *Ann Periodontol* 1998 ; 3 : 3-12.
24. Bissada NF, Manouchehr-Pour M, Haddow M et al. Neutrophil functional activity in juvenile and adult onset diabetic patients with mild and severe periodontitis. *J Periodont Res* 1982 ; 17 : 500-502.

NOUTĂŢI

EFECTE ANTISPASTICE ALE UNUI EXTRACT DIN *PLANTAGO LANCEOLATA* L. ŞI ALE UNOR CONSTITUENŢI AI ACESTUIA

Frunzele speciei *Plantago lanceolata* L. (*Plantaginaceae*, pătlagina îngustă) au o compoziţie chimică complexă : poliholozide, iridoide, flavonoide, compuşi fenilpropanici, acizi polifenolcarboxilici, triterpene pentaciclice, carotenoide, vitaminele A, C şi K, enzime proteolitice. Alături de frunzele de pătlagină lată (*Plantago major* L.) şi pătlagină moale (*Plantago media* L.), intră în componenţa drogului colectiv *Plantaginis folium*, utilizat pentru proprietăţile emoliente, astringente, antiinflamatoare, diuretice, hepatoprotectoare şi imunostimulatoare. Fleer şi Verspohl au investigat efectele antispastice ale unui extract moale obţinut din părţile aeriene de *Plantago lanceolata* L., precum şi ale unor constituenţi ai acestuia asupra ileonului şi traheei izolate de cobai. Extractul a inhibat contracţiile ileonului induse de acetilcolină, histamină, ioni de potasiu şi bariu, precum şi contracţiile traheei induse de ioni de bariu. Dintre constituenţii izolaţi, flavone de tipul luteolinei şi compuşi fenilpropanici de tipul acteozidei au diminuat contracţiile ileonului şi traheei determinate de acetilcolină şi respectiv, ionii de bariu. Acţiunea antispastică evidenţiată justifică parţial utilizarea extractelor din frunzele de pătlagină în tratamentul traheitelor şi laringotraheitelor (Fleer H, Verspohl EJ. Antispasmodic activity of an extract from *Plantago lanceolata* L. and some isolated compounds. *Phytomedicine* 2007 ; 14 (6) : 409-415).

Anca Miron

LIPOAMELE CAVITĂŢII ORALE - STUDIU RETROSPECTIV

Daniela Trandafir[1], D. Gogălniceanu[1], Violeta Trandafir[1], Irina-Draga Căruntu[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1 Disciplina de Chirurgie Orală şi Maxilofacială
2 Disciplina de Histologie

LIPOMAS OF THE ORAL CAVITY - A RETROSPECTIVE STUDY (Abstract): Lipomas are the most common soft tissue mesenchymal neoplasms, with 15 to 20% of the cases involving the head and neck region and 1 to 4% affecting the oral cavity. They represent 0.1 to 5% of all benign tumours of the mouth and are usually found as long-standing soft nodular asymptomatic swellings covered by normal mucosa. Few large series of intraoral lipomas and its variants are seen in literature. **Aim**: This study aimed to assess the clinical and histological features of intraoral lipomas. **Materials and methods**: A retrospective review was undertaken of medical records and histological studies of 19 patients with histopathologically proven intraoral lipomas, over a 15-year period (from 1992 to 2006) in Oral and Maxillo-Facial Sugery Department, Iaşi. **Results**: Most of the cases affected adults (18 cases) without gender predilection and the main involved sites were: the floor of the mouth (6 cases), the buccal mucosa (5 cases), the lips (4 cases), the tongue (3 cases) and the buccal sulcus (1 case). The histological analysis revealed 14 cases of common lipomas (3 with infiltrating features), 4 cases of fibrolipomas, and 1 myxoid lipoma. All lesions were surgically removed and none showed recurrence, regardless of the various histological subtypes. **Conclusions**: Lipomas should be considered in the differential diagnosis of soft-tissue head and neck masses. Even though several histological types are described, the clinical course and the surgical treatment are similar. Our study confirms the rare incidence of the oral lipomas development. **Key words**: INTRAORAL LIPOMA, FIBROLIPOMA, MYXOID LIPOMA

La nivelul cavităţii orale lipoamele reprezintă 0,5-1% din ansamblul tumorilor benigne, fiind localizare preferenţial sub mucoasa jugală sau cea a planşeului, la nivelul limbii şi buzelor (1,2) şi fiind caracterizate printr-o creştere lentă, frecvent asimptomatică. Rar, ele pot face parte dintr-o lipomatoză multiplă. Etiologia lipoamelor intraorale nu este clarificată, rolul factorul traumatic, acceptat pentru localizarea extraorală, fiind discutabil (3). Diagnosticul clinic este susţinut de dezvoltarea de tip solitar, dimensiunile variabile, forma rotund-ovalară, pediculată sau sesilă, mucoasa suprajacentă menţinându-şi aspectul normal (1). Examenul histopatologic relevă prezenţa de celule adipoase mature. În cazul în care sunt asociate şi alte structuri tisulare de origine mezenchimală, diagnosticul microscopic încadrează tumora ca fibrolipom, lipom mixoid, angiolipom, lipom pleomorf, lipomul atipic şi lipom cu celule fusiforme (4,5).

În fluxul principal de publicaţii dedicat patologiei benigne a ţesutului adipos în aria cap-gât, predomină studiile dedicate lipoamelor şi lipomatozelor extraorale, existând foarte puţine raportări asupra lipoamelor intraorale, ca serii de cazuri (2,4,8) sau cazuri clinice reprezentative (1,3,5,6,7).

De aceea, în baza experienţei existente

într-un interval de 15 ani în cadrul Clinicii de Chirurgie Orală şi Maxilofacială Iaşi, am realizat o analiză retrospectivă a cazuisticii cu diagnostic de lipom, studiul nostru individualizându-se prin prezentarea principalelor caracteristici clinico-morfologice ale unei serii de lipoame intraorale, provenite dintr-o arie teritorială regională, într-o perioadă de timp semnificativă.

MATERIAL ŞI METODĂ

În intervalul 1992-2006, în Clinica Chirurgie Orală şi Maxilofacială Iaşi au fost diagnosticate 111 cazuri de lipom, din care 73 au fost lipoame cu localizare în regiunile extraorale ale ariei cap-gât, 19 - lipomatoze simetrice multiple cu predominanţă cervicală şi 19 - lipoame intraorale. Toate cazurile au fost analizate în baza tuturor informaţiilor existente în foile de observaţie: vârstă, sex, diagnostic clinic, diagnostic anatomopatologic, date de laborator, tehnică chirurgicală, evoluţie, recidive, urmărindu-se realizarea unui profil clinico-morfologic al lipoamelor intraorale.

REZULTATE

Cele 19 cazuri de lipoame orale au reprezentat 17,1% din totalul tumorilor adipoase benigne incluse iniţial în studiu şi 4% din totalul tumorilor benigne ale părţilor moi ale cavităţii orale, diagnosticate în clinică în aceeaşi perioadă.

Sub raportul distribuţiei intraorale, 6 cazuri au fost localizate în planşeul oral, 5 cazuri în regiunea jugală, 4 cazuri la nivelul buzelor, 3 cazuri la nivelul limbii şi 1 caz în şanţul vestibular.

Sub raportul distribuţiei pe sexe, 8 cazuri au fost de sexul feminin şi 11 cazuri de sex masculin. Sub raportul distribuţiei pe grupe de vârste, 18 cazuri au fost înregistrate la adulţi, cu următoarea repartiţie: 30-39 ani - 2 cazuri, 40-49 ani - 4 cazuri, 50-59 ani - 2 cazuri, 60-69 ani - 5 cazuri, 70-79 ani - 5 cazuri (predominanţă peste 40 ani, cea mai mare frecvenţă fiind înregistrată între 60-80 ani). Unul dintre cazuri a fost diagnosticat la o un copil în vârstă de 7 luni.

Explorările de rutină de laborator nu au decelat modificări notabile; sporadic, s-au înregistrat valori uşor crescute ale colesterolemiei totale (230-250 mg/dl) şi moderat crescute ale trigliceridelor serice (250-300 mg/dl).

Diagnosticul stabilit preoperator, pe baza elementelor clinice, a fost confirmat de examenul histopatologic al piesei operatorii, care a permis încadrarea în următoarele subtipuri: lipom: 14 cazuri (73,67%); fibrolipom: 4 cazuri (21,05%); lipomixom: 1 caz (5,26%). Lipoamele au prezentat o structură microscopică tipică, fiind constituite din adipocite mature, fără atipii celulare, cu organizare lobulară. Inconstant au fost identificate arii de necroză adipoasă înconjurate de macrofage şi zone de calcificări. În 3 cazuri, tumora a prezentat un caracter infiltrativ, fapt ce a determinat introducerea, în diagnosticul histopatologic, a termenului "infiltrativ", corespunzător dezvoltării intramusculare. Fibrolipoamele au inclus prezenţa de fascicule groase, marcate, de ţesut conjunctiv matur, de tip fibros, disecând lobulii adipoşi. Pentru lipomixom, diag-

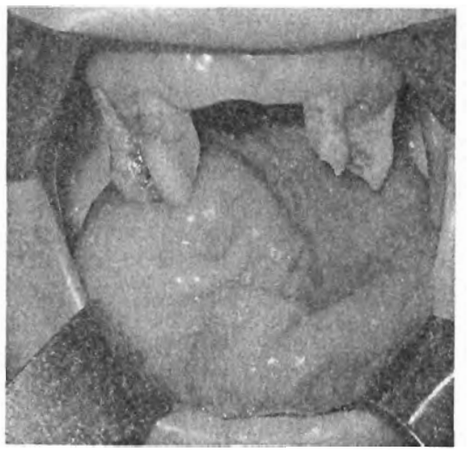


Fig. 1. Aspect clinic al unui lipom infiltrativ în 1/2 dreaptă a limbii

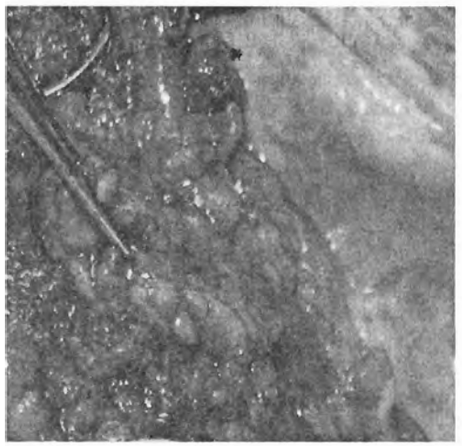


Fig. 2. Aspect intraoperator de infiltrare adipoasă întremuşchii limbi

Fig. 3. Rezultat postoperator după glosectomie parţială dreaptă (extirpare lipom)

nosticul s-a bazat pe identificarea modificărilor mixoide evidente, cu distribuţie focală.

Pentru toate subtipurile histologice, managementul chirurgical aplicat în fiecare caz a constat în excizie locală a tumorii încapsulate. Subliniem faptul că în lipoamele infiltrative a fost necesară rezecţia largă în ţesut sănătos (fig. 1, 2 şi 3), extirparea chirurgicală incompletă putând conduce la o rată de recurenţă potenţial înaltă.

În cazuistica analizată, rata de recidivă apreciată prin controlul pacienţilor la 1 an, 2 ani şi 3 ani postoperator a fost zero.

DISCUŢII

Formarea lipomului (în orice locaţie) reflectă o proliferare de ţesut adipos normal histologic şi biochimic (respectiv compoziţia în acizi graşi), dar cu un comportament metabolic diferit faţă de grăsimea normală (precursorii de acizi graşi sunt încorporaţi într-un ritm mai rapid în celule, iar activitatea lipazei lipoproteice este redusă) (8).

Histogeneza lipomului este încă incertă; celulele adipoase mature derivă nu numai din resturile embrionare ale lipoblastelor şi proliferarea mezodermului embrionar, dar şi din degenerarea grăsoasă a altor celule sau din metaplazia celulelor musculare. Date experimentale raportează lipogeneza în fibroblaste (8), fapt care poate explica dezvoltarea de lipoame în oricare organ – inclusiv în ficat şi splină, care nu au în componenţa lor celule adipoase embrionare.

Prima descriere a unui lipom în cavitatea orală, ca "epulis galben", datează din 1848 şi aparţine lui Roux. Conform literaturii de specialitate (2,4,5,8), există variaţii largi ale raportului între lipoamele orale şi cele extraorale sau ale raportului între lipoamele orale şi celelalte tumori benigne de părţi moi ale cavităţii orale (tab. I).

Rezultatele studiului nostru relevă, comparativ cu datele din literatură, o proporţie mai mare a lipoamelor intraorale faţă de cele din aria cap-gât (17,1%), dar un raport similar între lipoamele cavităţii orale şi restul tumorilor benigne ale părţilor moi orale (4%). În seria noastră am întâmpinat dificultăţi în stabilirea diagnosticului clinic în cazurile în care lipomul a fost situat în profunzime, punându-se în discuţie diagnosticul diferenţial cu o tumoră de glandă salivară minoră; diferenţierea s-a făcut intraoperator, prin disecţia tumorii, diagnosticul final fiind confirmat prin examenul histopatologic.

TABELUL I

Lipoame intraorale raportate individual sau în serii de cazuri – revista literaturii

Grosch, 1887: 1 caz în serie de 716 lipoame
Adair, 1932: 9 cazuri în serie de 134 lipoame
Geschickter, 1934: 3 cazuri în serie de 460 lipoame
Delanoy, 1935: 47 cazuri
Jahr, 1941: 44 cazuri (1922-1938)
Bernier, 1947: 4 cazuri din 1822 tumori benigne orale
Almeida: 3 cazuri din 846 tumori de limbă (274 tumori benigne)
Adair, Wakely, 1952: 4-5% din tumori benigne ale corpului
Bernier, 1959: 1% din tumori benigne ale cavităţii orale
Simpson, 1959: 5 cazuri (5 ½ ani)
Giardino, 1961: 6 cazuri din 1042 tumori benigne ale părţilor moi orale
Fietta, Gennari, 1962: 2 cazuri din 431 tumori benigne orale
Bertelli, 1964: 6 cazuri din 633 tumori benigne orale
Wehrle, 1965: 2,2% din tumori benigne ale cavităţii orale
Hatziotis, 1966: 1 caz din 512 tumori orale benigne (7 ani)
MacGregor, Dyson, 1966: revista literaturii pentru 46 cazuri + 11 cazuri proprii
Seldin, 1967: 26 cazuri
Borello, 1967: 2 cazuri din 169 tumori de părţi moi în cavitatea orală
Stasinopoulos, 1967: 1 caz din 382 tumori benigne în cavitatea orală
Dockerty, 1968: 4,4% din tumori benigne în cavitatea orală (10 ani)
Hatziotis, 1971: revista literaturii pentru 145 cazuri (1945-1967)
Rapidis, 1982, de Visscher, 1982: Gnepp, 2001: 1-4% din totalul lipoamelor ariei cap-gât
Barnes, 1985: 13 % din totalul lipoamelor ariei cap-gât

Evoluţia clinică favorabilă, cu rată de recidivă zero inclusiv pentru lipoamele infiltrative, este rezultatul extirpării chirurgicale complete, confirmate de marginile plăgii histologic libere de tumoră (1,7).

În conformitate cu tendinţele actuale de rafinare a diagnosticului, examenul histopatologic poate fi completat de investigaţii imunohistochimice, pentru aprecierea unei posibile activităţi proliferative, existând diferenţe în expresia PCNA şi Ki-67 pentru diferitele subtipuri histologice de lipom (2). Totuşi, deşi rata proliferativă a fibrolipoamelor este mai mare decât a lipoamelor obişnuite (expresia crescută a PCNA sugerând o creştere mai rapidă), nu s-au raportat diferenţe în evoluţia clinică după tratamentul chirurgical.

CONCLUZII

Diagnosticul de lipom oral se stabileşte în baza examenului clinic şi se confirmă prin examen anatomopatologic. Deşi sunt recunoscute mai multe subtipuri histologice, semnificaţia clinică şi abordarea terapeutică chirurgicală sunt similare. Studiul realizat confirmă dezvoltarea rară a lipoamelor la nivelul cavităţii orale.

BIBLIOGRAFIE

1. Moore PL, Goede A, Phillips DE, Carr R. Atypical lipoma of the tongue. *J Laryngol Otol* 2001; 115 (10): 859-862.
2. Fregnani ER, Pires FR, Falzoni R, Lopes MA, Vargas PA. Lipomas of the oral cavity: clinical findings, histological classification and proliferative activity of 46 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003; 32: 49- 53.

3. Ghandour K, Issa M. Lipoma of the floor of the mouth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992 ; 73 : 59- 60.
4. Hatziotis JC. Lipoma of the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971 ; 31 : 511- 524.
5. Said-Al-Naief N, Zahurullah FR, Sciubba JJ. Oral Spindle Cell Lipoma. *Ann Diagn Pathol* 2001 ; 5 : 207- 215.
6. Piattelli A, Fioroni M, Iezzi G, Rubini C. Osteolipoma of the tongue. *Oral Oncol* 2001 ; 37 : 468-470.
7. Keskin G, Ustundag E, Ercin C. Multiple infiltrating lipomas of the tongue. *J Laryngol Otol* 2002 ; 116 (5) : 395-398.
8. Greer RO, Richardson JF. The nature of lipomas and their significance in the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1973 ; 36 (4) : 551- 557.

NOUTĂŢI

SCREENINGUL GENETIC PREMERGĂTOR FERTILIZĂRII *IN VITRO*

Mastenbroek et al. au prezentat în volumul din 5.07.2007 al *N Engl J Med* rezultatele unui studiu multicentric, controlat, dublu orb şi randomizat asupra ratei de succes a procedurilor de fertilizare in vitro (FIV) cu şi fără un screening genetic preimplantatoriu (SGP) la femei cu vârstă maternă avansată. Loturile de studiu, alcătuite din 408 femei au fost selecţionate din clinici din Amsterdam şi Groningen. Femeile care au fost testate aveau vârsta de 35-41 de ani, nu au avut reproductive în urma unor proceduri de FIV şi a fost încercată urmărirea lor pe parcursul a 3 cicluri de stimulare ovariană. Femeile la care a fost efectuat studiul au fost împărţite în două subloturi : unul de 206 femei la care embrionii ce au fost introduşi *in utero* au fost supuşi unui SGP, iar altul (lotul de control) de 202 femei în care alegerea embrionilor s-a făcut pe baza morfologiei celulare. În cazul ambelor subloturi, aproximativ 1/3 dintre femei nu au putut fi urmărite pe parcursul a 3 cicluri de stimulare ovariană, datorită răspunsului limitat sau absent la terapie. Protocolul de SGP a prevăzut recoltarea unei celule embrionare în stadiul de blastomer, urmată de analiza prin FISH a cromosomilor 1, 16 şi 17 în prima zi, respectiv a cromozomilor 13, 18, 21, X şi Y în a doua zi. Compararea celor două subloturi a indicat că rata de nidare a embrionilor după SGP a fost mai mică decât la lotul de control (25% vs. 37%), iar rata de naştere a unor copiii normali a fost de asemenea mai mică la femeile cu SGP, decât la cele din lotul de control (24% vs. 35%). Explicaţiile posibile ale ratelor de eşec ale FIV după SGP sunt conform autorilor : lezarea blastomerelor în urma biopsiei, prezenţa unei aneuploidii a altor cromozomi decât cei testaţi prin FISH sau existenţa unor mozaicuri cromozomice, imposibil de detectat prin analiza unei singure celule. În concluzie, autorii indică că SGP nu ar trebui să constituie o metodă de rutină în cazurile de FIV (Mastenbroek S, Twisk M, van Echten-Arends J et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N Engl J Med* 2007 ; 357 : 9-17).

E.V. Gorduza

VALOAREA LAMBOURILOR FASCIOCUTANATE TEMPORO-PARIETALE ÎN RECONSTRUCŢIA DEFECTELOR CUTANATE DIN TERITORIUL OMF

V. Costan[1], D. Gogălniceanu[1], M. Borcea[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1 Clinica de Chirurgie OMF
Spitalul Clinic Universitar de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2 Clinica ATI

THE VALUE OF THE TEMPOROPARIETAL FASCIOCUTANEOUS FLAPS IN RECONSTRUCTION OF THE OMF TERRITORY CUTANEOUS DEFECT (Abstract) : **Aims** : The authors propose the temporoparietal fasciocutaneous flaps for covering the surface skin defects from oro-maxilo-facial territory. **Matherial and method** : Between 2000 and 2006 we performed 8 of this kind of flaps : 5 insular temporoparietal fasciocutaneous flaps, 2 fasciocutaneous flaps and one rotated flap. These flaps were used for reconstruction of the defects of the mouth's commissures, genian region in 1/2 superior, parotidian region, upper lip and nasogenian sulcus. **Results** : We recorded a singular case with necrosis of the insular fasciocutaneous flap ; the rest of 7 were entirely survived. The cosmetic appearance was acceptable for all patients and the symmetry of the reconstructed area versus contralateral area was satisfactory. One case has cicatriceal alopecia at the donor site and in two cases, alopecia because of use of the skin graft for covering the donor defect. **Conclusion** : The fasciocutaneous temporoparietal flap is a value technique for repairing the facial skin defect. **Key words** : TEMPOROPARIETAL FASCIOCUTANEOUS FLAP, CUTANEOUS FLAP, INSULAR FLAP

Tehnicile de chirurgie reconstructivă moderne au permis efectuarea unor exereze chirurgicale din ce în ce mai întinse, prin care se poate respecta principiul chirurgical esenţial în tratamentul afecţiunilor neoplazice : „chirurgul trebuie sa taie fără să se gândească cum va închide defectul" (1). În plastia defectelor faciale o astfel de soluţie o reprezintă reconstrucţia prin utilizarea lambourilor fasciocutanate temporoparietale. Tehnica nu este nouă. În 1898 a fost folosit prima dată un lambou fasciocutanat pediculat, axat pe vasele temporale superficiale, pentru reconstrucţia pleoapei inferioare (Monks) şi a urechii externe (Brown) (2). Esser (1917) a descris lamboul insular fasciocutanat bazat pe artera temporală superficială, pentru refacerea arcadei sprâncenare (3). În acelaşi timp a fost introdus şi conceptul de lambou fasciocutanat insular, la care pediculul vascular este plasat intratisular.

Lambourile fasciocutanate temporoparietale permit obţinerea unor bune rezultate estetice şi funcţionale în cazul refacerii unor defecte cutanate faciale.

Au fost utilizate două tipuri de lambouri : cele fasciocutanate insulare şi cele fasciocutanate.

MATERIAL ŞI METODĂ

În intervalul 2000 - 2006 au fost refă-

cute defecte situate la nivelul comisurii bucale, a regiunilor geniană 1/2 superioare şi parotidiană, a buzei superioare şi a şanţului nazogenian prin folosirea, la 8 bărbaţi cu vârste cuprinse între 41 şi 68 de ani, a 5 lambouri fasciocutanate insulare tunelizate, a unuia fasciocutanat rotat şi a 2 fasciocutanate tubulizate. Acestea din urmă au fost autonomizate la 4 săptămâni prin secţionarea şi modelarea pediculului tubulizat.

În 3 dintre cazuri închiderea defectului de la nivelul zonei donatoare a fost realizată prin plastie cu grefă de piele liberă despicată recoltată de pe faţa antero-externă a coapsei. În celelalte 5 cazuri, defectul a fost acoperit prin utilizarea de lambouri de vecinătate.

Din defectele reconstruite, 7 au fost consecutive extirpării unor carcinoame spinocelulare iar unul consecutiv extirpării unui carcinom bazocelular.

Preoperator, am reperat manual şi marcat traiectul vaselor temporale superficiale, forma defectului cutanat facial (fig. 1), ţinându-se cont de lungimea pediculului, care la rândul ei a fost marcată pe tegumentul scalpului (fig. 2).

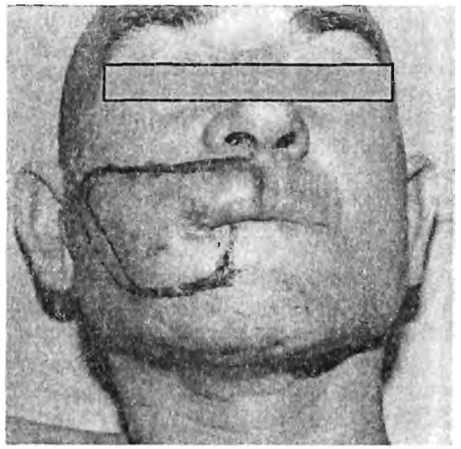


Fig. 1. Carcinom scuamocelular buza inferioară operat, recidivat în comisura bucală şi în regiunea geniană drepte

Recoltarea lambourilor fasciocutanate insulare începe printr-o incizie cutanată situată la circa 3 cm posterior de traiectul vaselor, până la insula cutanată. La nivelul hipodermului, sub bulbii firelor de păr se disecă tegumentul de pe fascie păstrând limitele insulei cutanate, fără a exista un plan natural de clivaj între acestea. După identificarea şi izolarea pediculului vascular, fascia a fost secţionată şi lamboul ridicat facil de pe fascia temporală profundă în regiunea temporală, iar în rest de pe periost de care este separată printr-un ţesut conjunctiv areolar. Printr-un tunel creat în muşchiul buccinator, lamboul a fost adus în zona receptoare pe deasupra arcadei zigomatice. A fost acordată o atenţie deosebită dimensiunilor acestui tunel, pentru a nu apărea compresiuni asupra pediculului vascular care să compromită vitalitatea lamboului.

Recoltarea lambourilor fasciocutanate a fost relativ simplă. După stabilirea lungimii

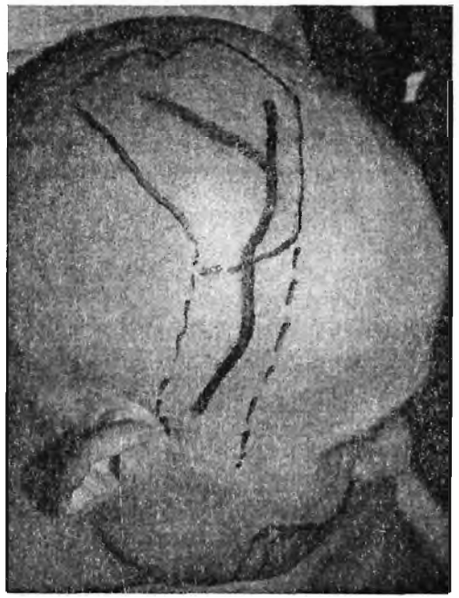


Fig. 2. Desenul lamboului temporal superficial trasat ţinându-se cont de traiectul vaselor temporale superficiale, reperat preoperator

şi a lăţimii pediculului, urmată de desenarea pe tegument a formei defectului, am incizat fascia şi tegumentul regiunii temporale şi apoi a celei parietale. La nivelul pediculului lăţimea a fost de circa 2 cm, de o parte şi de cealaltă a arterei temporale superficiale. Disecţia s-a realizat apoi cu uşurinţă la nivelul planului natural de clivaj dintre fascia temporală superficială şi planul fasciei temporale profunde şi a periostului. După reconstrucţia defectului cutanat, pedicul lamboului a fost tubulizat, pentru a fi secţionat după 4 săptămâni.

Unul dintre lambourile fasciocutanate a fost rotat la nivelul defectului.

REZULTATE

În 7 dintre cazuri, lambourile au supravieţuit fără incidente. Un lambou fasciocutanat insular tunelizat s-a necrozat în totalitate începând cu ziua treia.

Rezulatele morfologice, estetice şi funcţionale au fost bune, pacientul având un aspect exterior acceptabil în condiţiile în care deschiderea gurii, fonaţia şi deglutiţia au fost puţin afectate (fig. 3).

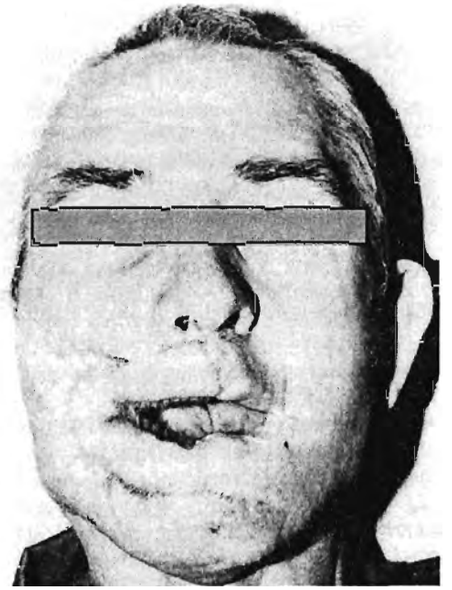


Fig. 3. Aspect postoperator cu o uşoară limitare a deschiderii gurii

La nivelul zonei donatoare în cele trei cazuri de utilizare a grefei de piele liberă despicată a rezultat o zonă de alopecie. Alopecie cicatriceală a fost înregistrată şi într-un caz în care am acoperit zona donatoare cu lambouri de vecinătate.

DISCUŢII

În general, lambourile fasciocutanate insulare tunelizate temporoparietale necesită un singur timp operator. Există anumite situaţii - teren multioperat, iradiat etc. în care plasarea intratisulară a pediculului este dificilă, şi există posibilitatea crescută de apariţie a complicaţiilor. Este preferabilă tubulizarea pediculului lamboului şi realizarea reconstrucţiei în doi timpi operatori.

Lambourile fasciocutanate insulare reprezintă o metodă bună de reconstrucţie a defectelor de la nivelul comisurii din mai multe motive:

- pielea scalpului este cea mai groasă piele a corpului (4) fiind în acelaşi timp rigidă (5);
- fascia unui lambou fasciocutanat pediculat, expusă în cavitatea orală se transformă în 6 - 8 săptămâni într-o mucoasă dificil de diferenţiat clinic ori histologic de mucoasa orală obişnuită (6). Modificările fasciei au loc în mai multe etape. O etapă precoce, edematoasă, o etapă de granulare în care fascia se acoperă cu ţesut de granulaţie (prima şi a doua săptămână) şi o ultimă etapă, de epitelizare, care are loc de la periferie spre centru (7);
- permit realizarea reconstrucţiei într-un singur timp operator.

Din aceste motive am utilizat aceste lambouri, fascia transformându-se în gură conform descrierii lui Herman (7), fiind înlocuită de o mucoasă orală de bună calitate. Acest proces are loc fără ca fascia să se retracte cu mai mult de 15% din suprafaţă (6). În consecinţă, rezultatele funcţionale

în reconstrucţia comisurii bucale au fost bune ori foarte bune, fără limitări ale deschiderii gurii, modificări ale fonaţiei ori a deglutiţiei.

Aceeaşi rigiditate crescută a tegumentului şi capacitate de transformare a fasciei a făcut lamboul util pentru plastia unor defecte în care a fost necesară secţionarea întregii grosimi a nasului, deoarece permite menţinerea deschisă a foselor nazale.

Lamboul prezintă şi o serie de dezavantaje:

- absenţa unui plan natural de clivaj între tegument şi fascie face ca la acest nivel disecţia să fie foarte dificilă (8);
- o disecţie prea profundă poate leza vasele şi în special venele, mai superficiale decât arterele, cu riscul consecutiv de afectare a vitalităţii lamboului. O creştere a preciziei disecţiei poate fi conferită de recoltarea endoscopică a acestor lambouri (9);
- dacă se realizează o disecţie prea superficială pot fi lezaţi bulbii firelor de păr cu alopecie cicatriceală consecutivă - complicaţie mai puţin gravă, deoarece părul de pe scalp poate ascunde cu uşurinţă aceste alopecii (10);
- posibilitatea de a leza ramul frontal al nervului facial (11).

CONCLUZII

Lambourile axate pe vasele temporale superficiale oferă multiple posibilităţi de reconstrucţie a pierderilor de substanţă cutanate de la nivelul teritoriului oro-maxilofacial. În funcţie de necesităţi putem utiliza lambouri într-un singur timp ori în doi timpi, putem utiliza lambouri fasciocutanate tubulizate, rotate sau insulare tunelizate.

Utilizarea lor este indicată în special la bărbaţi pentru refacerea pielii păroase.

BIBLIOGRAFIA

1. Sebileau P. *Le traitement du cancer de la langue*. Paris: Doin, 1932.
2. Cheney ML, Megerian CA, Brown MT et al. The use of the temporoparietal fascial flap in temporal bone reconstruction. *Am J Otol* 1996; 17 (1): 137-142.
3. Özdemir R, Sungur N, Şensöz O et al. Reconstruction of facial defects with superficial temporal artery island flaps: a donor site with various alternatives. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109(5): 1528-1535.
4. Mehrotra S, V Nanda, RK Shar. The islanded scalp flap: a better regional alternative to traditional flaps. *Plast Recon Surg* 2005; 116 (7): 2039-2040.
5. Raposio E, Nordstrom R, Santi P. Undermining of the scalp: quantitative effects. *Plast Reconstr Surg* 1998; 101(5): 1218 -1222.
6. Ugurlu K, Hüthüt I, Özçelik D et al. Epithelialization process of free fascial flaps used in reconstruction of oral cavity mucosa defects in dogs. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113 (3): 915-923.
7. Herman D, Boudard P, Martin D, Piller P. *Les lambeaux du pédicule temporal superficiel*. Paris: Masson, 1997, 46.
8. Abul-Hassan HŞ, Ascher GVD, Acland RD. Surgical anatomy and blood supply of the fascial layer of the temporal region. *Plast Reconstr Surg* 1986; 77 (1): 17-24.
9. Yano H, Fukui M, Yamada K, Nishimura G. Endoscopic harvest of free temporoparietal fascial flap to improve donor-site morbidity. *Plast Reconstr Surg* 2001; 107 (4): 1003-1008.
10. Rose EH, Norris MS. The versatile temporoparietal fascial flap: adaptability to a variety of composite defects. *Plast Reconstr Surg* 1990; 85 (2): 224-232.
11. Ahmed OA, Kolhe PS. Prevention of Frey's syndrome and volume deficit after parotidectomy using the superficial temporal artery fascial flap. *Brit J Plast Surg* 1999; 52(4): 256-260.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

STUDIU PRIVIND APRECIEREA RELAŢIEI DINTRE CALITATEA VIEŢII ŞI SĂNĂTATEA ORALĂ, UTILIZÂND AUTOEVALUAREA GLOBALĂ, LA UN LOT DE VÂRSTNICI

Mihaela-Monica Scutariu[1], Corina Păcurariu[2], Maria Ursache[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1 Disciplina de Gerontostomatologie
2 Cabinet Medical Individual Braşov

LIFE QUALITY AND ORAL HEALTH RELATIONSHIP ASSESSMENT USING GLOBAL AUTOEVALUATION IN A GROUP OF ELDERLY PATIENTS (Abstract): Oral-health-related quality of life is expected to have multiple dimensions. The aim of this study was to investigate the correlation between the oral health and the quality of life in a group of 123 elderly people who attended our clinic. All of them responded to a questionnaire concerning the way they perceived the effect of oral health on different parameters related to the quality of life. The impact of oral health on life quality in our study was great, with three-quarters of the respondents perceiving that their oral health impacted on their life quality. **Key words**: ELDERLY, ORAL HEALTH, QUALITY OF LIFE

Multiplele modificări fiziologice şi patologice ce survin o dată cu înaintarea în vârstă la nivelul cavităţii orale influenţează adeseori calitatea vieţii vârstnicului. Există numeroşi parametri care reprezintă caracteristici ale calităţii vieţii, cum ar fi: cauza durerii, modul optim de tratament, eficienţa tratamentului în funcţie de materialele utilizate, modul în care patologia cavităţii bucale poate influenţa întregul organism. Numeroase chestionare sunt concepute pentru a putea înţelege acest aspect (1).

SCOPUL STUDIULUI

Evaluarea, pe baza unui chestionar de apreciere privind auto-evaluarea stării de sănătate orală, modul în care persoanele vârstnice percep influenţa acesteia asupra calităţii vieţii

MATERIAL ŞI METODĂ

A fost selectat un lot de pacienţi (123), din asistenţa la solicitare, cu vârsta peste 65 ani, care au răspuns la un chestionar, adaptat după McGrath et al. (2).

Întrebarea la care au răpspuns persoanele cuprinse în studiu a fost "Ce efect are sănătatea orală asupra următorilor parametri?

- Starea de confort
- Mirosul respiraţiei
- Sănătatea generală
- Capacitatea de a mesteca
- Aspectul fizic
- Vorbit
- Relaxare/somn
- Zâmbit/râs
- Incredere de sine
- Dispoziţie
- Personalitate
- Activitate socială
- Viaţă socială
- Relaţii romantice

Răspunsurile s-au realizat, în termeni generali, astfel:

- o excelentă;
- o foarte bună;
- o bună;
- o satisfăcătoare;
- o nesatisfăcătoare.

REZULTATE

Tabelul I indică un echilibru în ceea ce priveşte repartiţia pe sexe.

În tabelul şi graficul ce urmează (tab. II, fig. 1) sunt arătate valorile înregistrate, atât ca număr de respondenţi cât şi procentual:

În ceea ce priveşte starea de confort, impactul sănătăţii orale este privit ca fiind excelent de către 20% dintre respondenţi, foarte bun sau bun de către 35%, respectiv 37%, doar 2% arătând că relaţia este satisfăcătoare şi 1% nesatisfăcătoare.

Se pare că mirosul respiraţiei nu pare a fi, în viziunea vârstnicilor, legat de sănătatea orală, deoarece 45% consideră că impactul acesteia este bun, 28% foarte bun, 21% excelent, 2%, respectiv 1% considerând că relaţia este doar satisfăcătoare sau nesatisfăcătoare.

Între sănătatea generală şi cea orală, 42% arată că există o relaţie bună, foarte bună (38%), doar 15% dau răspunsul "excelentă" în timp ce la polul opus-satisfăcătoare sau nesatisfătoare situându-se doar 5, respectiv 1% dintre răspunsuri.

Capacitatea de a mesteca este legată de sănătatea orală deoarece valori apropiate arată că 38% consideră că trebuie să existe o relaţie bună, foarte bună (38%) sau excelentă (34%), 2%, respectiv1% arătând că această relaţie este satisfăcătoare / nesatisfăcătoare.

Aspectul fizic este influenţat de sănătatea orală, 38% arând că acesta este influenţat de e calitatea sănătăţii orale, foarte

TABELUL I

Repartiţia pe sexe a pacienţilor

Sex	Nr. pacienţi (%)
Bărbaţi	47,2
Femei	52,8

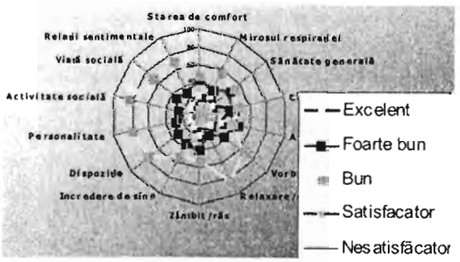


Fig. 1. Evaluarea calităţii vieţii în relaţie cu sănătatea orală

TABELUL II

Parametrii de evaluare a calităţii vieţii în relaţie cu sănătatea orală

Parametru de evaluare a calităţii vieţii	Excelent	Foarte bun	Bun	Satisfăcător	Nesatisfăcător
Starea de comfort	20% (24)	35% (42)	37% (45)	7% (9)	2% (3)
Mirosul respiraţiei	22% (27)	28% (34)	45% (54)	6% (7)	>1% (1)
Sănătate generală	15% (18)	38% (46)	42% (50)	5% (6)	>1% (1)
Capacitatea de a mesteca	34% (40)	30% (36)	38% (46)	8% (9)	>1% (1)
Aspect fizic	20% (24)	38% (46)	34% (40)	6% (7)	2% (3)
Vorbit	13% (15)	31% (37)	53% (63)	4% (5)	>1% (1)
Relaxare/somn	8% (9)	20% (24)	69% (82)	4% (5)	>1% (1)
Zâmbit/râs	18% (21)	32% (38)	43% (51)	6% (7)	>1% (1)
Incredere de sine	14%	30%	51%	5% (6)	>1% (1)
Dispoziţie	7% (8)	26% (32)	64% (76)	3% (4)	>1% (1)
Personalitate	9% (10)	24% (28)	66% (79)	3% (4)	2% (3)
Activitate socială	8% (9)	20% (24)	70% (84)	2% (3)	>1% (1)
Viaţă socială	12 (14)%	28% (34)	57% (68)	3% (4)	>1% (1)
Relaţii sentimentale	15% (18)	25% (30)	58% (69)	>1% (1)	2% (3)

bine (38%) bine (34%) sau excelent (28%), în timp ce 6% respectiv 2% dintre persoanele chestionate arată că nu sunt mulţumite de modul în care sănătatea orală le influenţează acest parametru.

Privind relaţia dintre sănătatea orală ţi vorbit, se pare că pentru 50%, aceată relaţie este bună, foarte bună (31%), doar 13% o consideră excelentă, în timp ce restul 4% dau răspunsul satisfăcatoare respectiv 1% nesatisfăcatoare.

Pentru 69% relaxarea sau somnul nu sunt afectate de starea sănătăţii orale, 20% răspund că relaţia este nesatisfăcatoare, 8% consideră că este excelentă, 4% respectiv 1% dau o relaţie satisfăcatoare / nesatisfăcatoare, fapt care arată că aceţtia au au probleme în ceea ce priveţte acest parametru.

Sănătatea orală are un efect bun asupra modului în care râd sau zâmbesc 43% dintre vârstnici, foarte bun pentru 32%, excelent pentru 18%; 6% dau o relaţie satisfăcatoare, doar 1% arătând ca nu sunt satisfăcuţi de modul în care sănătatea orală se reflectă în capacitatea de a râde sau zâmbi.

Pentru 56% sănătatea orală contribuie în mod definitoriu la o bună, foarte bună (30%) sau excelentă (15%) autoapreciere, 5% satisfăcătoare respectiv 1% nesatisfăcătoare, fapt ce demonstrează că aceasta are un impact detrimental asupra încrederii de sine.

Pentru cei care au răspuns la chestionar, există o relaţie bună între starera de sănătate orală, la 64% dintre aceţtia, foarte bună pentru 26%, excelentă la 7%. Doar 3% dau răspunsul satisfăcatoare iar 1% arată că au probleme în ceea ce priveţte starea de dispoziţie în relaţie cu sănătatea orală.

La 66% dintre persoanele chestionate, personalitatea este influenţată în bine de către sănătatea orală, la 24%, foarte bine, numai 9% consideră relaţia excelentă, în timp ce 3% respectiv 2% arată că relaţia este satisfăcatoare /nesatisfăcatoare.

Sănătatea orală influenţează în mod pozitiv activitatea socială pentru majoritatea respondenţilor, deoarece 70% dau răspunsul bun, 20% foarte bun ţi 8% excelent.

Pentru 2% respectiv 1% dintre aceştia, impactul sănătăţii orale asupra activităţii sociale este satisfăcator /nesatisfăcător, fapt care arată că o stare de sănătate orală precară are efect negativ asupra integrării acestora în activităţile sociale.

În general, vârstnicii sunt mulţumiti de modul în care sănătatea orală le permite integrarea în viaţa socială, 57% dintre ei dând răspunsul bun, 28% foarte bun, 12% excelent.

La extrema cealaltă, mai puţin mulţumiţi de modul în care viaţa lor socială este influenţată de sănătatea orală se situează cei care sunt doar satisfăcuţi (3%) sau nesatisfăcuţi (1%).

Pentru 58% sănătatea orală are un efect bun asupra relaţiilor romantice, pentru 25%, respectiv 15%, foarte bun ţi excelent. Pentru 1% efectul este satisfăcător, doar 2% fiind total nemulţumiţi de modul în care sănătatea orală le influenţează relaţiile sentimentale.

Per total, majoritatea respondenţilor (75%) au perceput sănătatea orală ca având un impact asupra calităţii vieţii. Au fost observate valori minime şi maxime, 1% având cele mai mici scoruri şi 2% având cele mai mari scoruri posibile. Persoanele în vârstă au perceput influenţa sănătăţi orale asupra calităţii vieţii, mai ales prin efectul asupra aspectului (66%), confortului (63%), şi asupra consumului de alimente (62%)

Totuţi, există o anumită prevalenţă a unor aspecte sociale ţi psihologice, cum ar fi influenţa sănătăţii orale asupra încrederii în sine (49%), a vieţii sociale (43%) şi a relaţiilor romantice (42%).

DISCUŢII

Din punctul de vedere al tuturor aspectelor, respondenţii au perceput statusul lor

de sănătate orală ca o îmbunătăţire, nu o scădere a calităţii vieţii.

Impactul sănătăţii orale asupra calităţii vieţii în lotul de persoane în vârstă a fost mare, trei sferturi dintre cei care au răspund percepând că sănătatea lor orală avea impact asupra calităţii vieţii lor

Din ce în ce mai mult, există un interes în aprecierea impactului sănătăţii orale asupra calităţii vieţii, la diferite nivele (3).

Deoarece temenul de „Calitatea vieţii în relaţie cu sănătatea orală" este definit ca evaluarea, atât din perspectivă personală, cât şi din perspectivă medicală, a modului în care este afectată starea de bine individuală, orice chestionar : care apreciază această relaţie trebuie să aprecieze modul în care o serie de factori precum factorii funcţionali, factorii psihologici care privesc aspectul şi respectul de sine al persoanei, unii factori sociali (interacţiunea şi percepţia în societate) sau experienţele dureroase şi de disconfort, afectează starea de bine a individului (4).

Deoarece relaţia calitatea vieţii - sănătatea orală variază în funcţie de toţi factorii menţionaţi, chestionarele menite să evalueze această relaţie sunt variate ca formă, cuprinzând un număr variabil de întrebări din diferite domenii.

Într-un efort de a concentra aprecierea problemelor de sănătate şi de calitate a vieţii, acum este larg folosit termenul de "calitate a vieţii dependentă de sănătate". În privinţa relaţiei dintre sănătate şi boală faţă de calitatea vieţii, pare să existe o asociere între aceste domenii, asociere care nu este în mod clar definită (5).

Interesul asupra rezultatului problemelor de sănătate orală a fost subiectul unei activităţi de cercetare semnificative în ultimile decenii.

Într-o serie de studii care au apreciat asocierea între măsurătorile obiective ale afecţiunilr dento-parodontale şi opiniile pacientului asupra statusului oral, relaţia era slabă, iar măsurătorile obiective nu reflectau cu acurateţe perspectiva pacientului (6).

Importanţa aprecierii viziunilor pacienţilor asupra sănătăţii şi prezenţei/absenţei bolii rezidă în nevoia de a avea date corecte pentru a promova sănătatea ţi programele de prevenire a bolilor, şi de a aloca resursele de sănătate. Mai mult, deoarece aprecierea pacienţilor asupra calităţii lor de viaţă în raport cu sănătatea este de multe ori marcant diferită de părerea profesioniţtilor în sănătatea orală, aprecierea pacientului asupra intervenţiilor este garantată.

Pentru măsurarea sănătăţii orale este esenţială o aprecierea bazată pe pacient a statusului de sănătate. Aceste măsurători oferă informaţii ce facilitează creşterea înţelegerii modului în care indivizii îşi percep nevoile de sănătate orală şi ce îi determină să solicite îngrijiri medicale. Efectul vârstei asupra calităţii vieţii este larg cunoscut (4). Procesul de îmbătrânire aduce cu sine o creţtere a experienţelor de viaţă cu bolile orale cronice şi cu schimbările psihologice ca şi cu deteriorarea asociată a funcţiilor orale, şi influenţe probabil negative din punct de vedere social şi psihologic.

Deci cel mai important factor de care trebuie să se ţină seama atunci când se măsoară relaţia dintre sănătatea orală şi calitatea vieţii este populaţia pe care se realizează studiile. Cele mai multe studii, atât cele ce au folosit auto-evaluarea sănătăţii orale cât şi cele ce au utilizat chestionare cu întrebări multiple, s-au adresat unor subiecţi adulţi sau de vârsta a III-a, deoarece 65-74 ani este vârsta la care se pot estima eficienţa tratamentelor anterioare precum şi necesarul de tratament pentru aceasta vârstă (4,7).

Estimarea stării de sănătate oro-dentară a unei populaţii furnizează datele pentru elaborarea programelor naţionale sau regionale, anticipând nevoile de tratament, numărul ţi categoriile de personal necesare pentru derularea programului (8).

Important pentru studiile transversale este studiul factorilor care sunt cel mai adesea asociate de către subiecţi cu o sănătate orală precară.

Studiile asupra sănătăţii orale se pot constitui în baze de date pentru realizarea de norme naţionale pentru constituirea profilului de sănătate orală, şi este foarte important ca aceste date să fie accesibile pentru alte măsurători, în scopul oferirii de interpretări ale studiilor locale şi pentru a facilita comparaţiile la diferite nivele.

CONCLUZII

Studiul calităţii vieţii în relaţie cu sănătatea orală ia în considerare toate aspectele vieţii unei persoane, precum şi starea de bine rezultată, acţionând deci la toate nivelurile de îngrijire medicală.

Din punctul de vedere al tuturor aspectelor din chestionar, vârstnicii au perceput starea bună a e sănătăţii orale drept o îmbunătăţire şi nu o scădere a calităţii vieţii.

Impactul sănătăţii orale asupra calităţii vieţii în lotul de vârstnici a fost mare, trei sferturi dintre cei care au răspuns percepând că sănătatea lor orală avea impact asupra calităţii vieţii lor

La nivel individual aceste considerente pot influenţa decizia terapeutică, iar la nivel social - pledează pentru înţelegerea nevoilor generale ale vâstnicilor.

BIBLIOGRAFIE

1. McGrath C, Bedi R, Gilthorpe MS. Oral health related quality of life — views of the public in the United Kingdom. *Community Dent Health* 2000 ; 17 : 3-7.
2. McGrath C, Bedi R. An evaluation of a new measure of oral health related quality of life - OHQoL-UK (W). *Community Dent Health* 2001 ; 18 : 138-143.
3. Heydecke G, Locker D, Awad MA, Lund JP, Feine JS. Oral and general health-related quality of life with conventional and implant dentures. *Community Dent Oral Epidemiol* 2003, 31 : 161-168.
4. Locker D, Slade GD. Association between clinical and subjective indicators of oral health status in an older adult population. *Gerodontology* 1994, 11 : 108-114.
5. Locker D, Slade GD. Oral health and quality of life among older adults : the Oral Health Impact Profile. *J Can Dent Ass* 1993, 59 : 830-844.
6. Locker D. Social and psychological consequences of oral disorders. In : Kay EJ editor. *Turning Strategy into Action*. Manchester : Eden Bianchipress, 1995.
7. Sheiham A, Steele JG, Marcenes W, Tsakos G, Finch S, Walls AWG. Prevalence of impacts of dental and oral disorders and their effects on eating among older people ; a national survey in Great Britain. *Comm Dent Oral Epidemiol* 2001, 28 : 195-203.
8. Slade GD, Spencer AJ, Locker D, Hunt RJ, Strauss RP, Beck JD. Variations in the social impact of oral conditions among older adults in South Australia, Ontario, and North Carolina. *J Dent Res* 1996 ; 75 : 1439-1450.

EVALUAREA EFECTULUI ANTIFUNGIC AL UNUI NOU DERIVAT DE PROPICONAZOL FAŢĂ DE 64 TULPINI LEVURICE IZOLATE DIN MICOZE VAGINALE

M. Mareş[1], Alina Ştefanache[2], Iuliana Popovici[2], V. Valica[3], D. Buiuc[4]
Universitatea "Petre Andrei" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1 Disciplina de Microbiologie
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
2 Disciplina de Chimie anorganică
Facultatea de Medicină
4 Disciplina de Tehnologie farmaceutică
3 Institutul Naţional de Farmacie Chişinău

EVALUATION OF THE ANTIFUNGAL EFFECT OF A NEW PROPICONAZOLE DERIVATIVE AGAINST 64 YEAST STRAINS ISOLATED FROM VAGINAL MYCOSIS (Abstract): Worldwide, vaginal candidosis represents a significant health problem in women of childbearing age. The aim of this paper is to evaluate under in vitro conditions resembling the vaginal microenvironment, the antifungal activity of a new propiconazole derivative against 64 strains of yeast species isolated from vulvovaginitis. The tests exhibited low MICs for all strains and this finding may be useful in using of this new azole compound for treatment of mycotic vaginitis. **Key words**: ANTIFUNGAL EFFECT, PROPICONAZOLE

Propiconazolul este un derivat azolic conceput şi lansat pe piaţă de Janssen Pharmaceutics (Belgia) în 1979 şi a fost folosit în agricultură ca fungicid foliar. Noul derivat de propiconazol (propiconazolul nitrat) a fost sintetizat după o metodă originală de către cercetători din cadrul Institutului de Chimie al Academiei de Ştiinţe din Republica Moldova şi studiat din punct de vedere farmaceutic la Institutul Naţional de Farmacie din Chişinău de către V. Valica. Metoda de obţinere şi purificare, precum şi identificarea şi dozarea prin diverse metode a nitratului de propiconazol au făcut obiectul unei teze de doctorat (1).

Datorită toxicităţii reduse care caracterizează acest nou derivat azolic - DL_{50} = 389,7 ± 65,2 mg/kg greutate vie la şoareci (1), există premisele utilizării sale în terapia diverselor micoze, în condiţiile în care se poate demonstra prin dovezi obiective activitatea antifungică constantă şi exercitată la concentraţii cât mai reduse faţă de o gamă variată de agenţi etiologici fungici.

În vederea evaluării posibilităţilor de folosire a nitratului de propiconazol în terapia micozelor vulvovaginale s-a recurs la efectuarea unor studii *in vitro* utilizând tulpini levurice cu o astfel de proveniență şi un mediu de testare lichid similar fluidului vaginal. Am considerat că utilizarea acestuia este benefică pentru obţinerea unor rezultate cât mai relevante deoarece condiţiile de testare *in vitro* imită condiţiile existente *in vivo* (compoziţie chimică, pH), adică sunt asigurate condiţii similare celor

din focarul infecţios.

MATERIAL ŞI METODĂ

• *Tulpini levurice* izolate din vaginite micotice (n = 64)

• *Propiconazol nitrat* - pulbere, puritate 99,4%, proveniență: Institutul de Chimie al Academiei de Ştiinţe din Republica Moldova.

• *Medii şi reagenţi:*

a) Agar Sabouraud (Biokar Diagnostics, Franţa), turnat în plăci Petri

b) Mediu SVSM (Synthetic Vagina-Simulative Medium) preparat după metoda citată de Moosa et al. (2)

Compoziţie: clorură de sodiu 3,5 g, hidroxid de potasiu 1,4 g, hidroxid de calciu 0,22 g, albumină serică bovină 18 mg, acid lactic 90% 2,2g, acid acetic glacial 1,0g, glicerol 50% 0,32 g, uree 0,4 g, glucoză 5 g şi apă deionizată până la 1000 ml.

Preparare şi păstrare: ingredientele (cu excepţia celor termosensibile - albumina şi ureea) au fost solubilizate în apa deionizată, apoi soluţia astfel obţinută a fost sterilizată prin autoclavare 15 minute la 121°C. După răcire, am adăugat şi componentele termosensibile, în proporţiile recomandate, obţinându-se mediul gata de utilizare. pH-ul acestuia a fost ajustat la 4,2 folosindu-se după caz, fie soluţie 1M acid clorhidric, fie soluţie 40 mM hidroxid de sodiu. Mediul astfel preparat a fost păstrat în condiţii de refrigerare (2°-8°C) până în momentul utilizării.

c) soluţie salină sterilă (0,85% NaCl)

d) dimetil-sulfoxid (DMSO) (Fluka, Germania)

e) standard 0,5 McFarland (bioMérieux, Franţa)

• *Dispozitive şi aparate*

a) pH-metru electronic (Denver Instruments, SUA)

b) spectrofotometru UV-Vis Cary 50 Conc (Varian, SUA)

c) balanţă analitică GR-200 (A&D Company, Japonia)

d) pipete automate

e) hotă cu flux laminar TWO-30 (Faster, Italia)

f) incubator termoreglabil IP200 Memmert, Germania)

• *Mod de lucru.* Am utilizat metoda de testare M27-A2 recomandată de CLSI (3), parcurgând următoarele etape:

a) prepararea soluţiei-stoc a derivatului de propiconazol.

Cantitatea de agent antifungic necesară preparării soluţiei-stoc am calculat-o după formula:

$$\text{Cantitatea (mg)} = \frac{\text{Volumul necesar (ml) x Concentratia dorita (mg/ml)}}{\text{Puritatea substantei antifungice}}$$

b) pregătirea seriilor de diluţii ale agentului antifungic.

Deoarece concentraţiile finale alese pentru testare sunt 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125 şi 0.0625 μg/ml, am preparat mai întâi soluţii de 100 ori mai concentrate (3200, 1600 ... 6,25 μg/ml) utilizând soluţia-stoc (3200 μg/ml) şi volume corespunzătoare de DMSO. Apoi, din fiecare concentraţie astfel pregătită, am pipetat 100 μl în fiole cu volum corespunzător şi am adaugat 900 μl mediu SVSM obţinând o diluţie de 1 : 10 a agentului antifungic şi a DMSO (concentraţiile intermediare: 320, 160 ... 0.625 μg/ml). Diluţia finală (1 : 100) se obţine prin adăugarea inoculului (suspensia levurică în mediu SVSM) în volum de 900 μl peste 100 μl din fiecare concentraţie intermediară a agentului antifungic. Am obţinut astfel concentraţiile finale dorite ale nitratului de propiconazol (32, 16, ... 0.0625 μg/ml) şi o diluare a DMSO de 1 : 100.

c) Pregătirea inoculului. Etapele urmate în pregătirea inoculului:

o *Obţinerea de subculturi pe PDA pentru tulpinile de testat*, utilizând culturile-stoc purificate păstrate la temperatura de refrigerare. Temperatura de incubare a fost de 35° ± 0.1°C.

o *Obţinerea inoculului-stoc* prin suspensionarea a 5 colonii cu diametrul de aproximativ 1 mm, în vârstă de cca. 24 ore, în soluţie salină.

o *Ajustarea densităţii suspensiei* prin adăugarea de soluţie salină sterilă, astfel încât absorbanţa determinată spectrofotometric să corespundă celei produse de standard-ul 0,5 McFarland la o lungime de undă de 530 nm. Încărcătura finală a inoculului-stoc astfel pregătit variază între 1 x 10^6 şi 5 x 10^6 celule/ml.

o *Prepararea suspensiei de lucru sau a inoculului propriu-zis* prin diluarea 1 : 100 a inoculului-stoc în soluţie salină sterilă, urmată de o nouă diluare 1 : 20 în SVSM a suspensiei obţinute; rezultă o încărcătură în celule levurice/ml între 0,5 x 10^3 şi 2,5 x 10^3.

d) Inocularea flacoanelor conţinând diluţii ale agentului antifungic (fig. 1). Într-un interval de maxim 15 minute după standardizarea spectrofotometrică, din inocul am transferat câte 0,9 ml în fiecare flacon al seriei de diluţii conţinând 0,1 ml din concentraţiile intermediare menţionate, respectiv în flaconul martor conţinând 0,1 ml diluţie 1 : 10 DMSO. Am obţinut astfel o diluţie 1 : 10 a fiecărei concentraţii a agentului antifungic şi o diluare cu 10% a inoculului. În paralel, am utilizat pentru fiecare

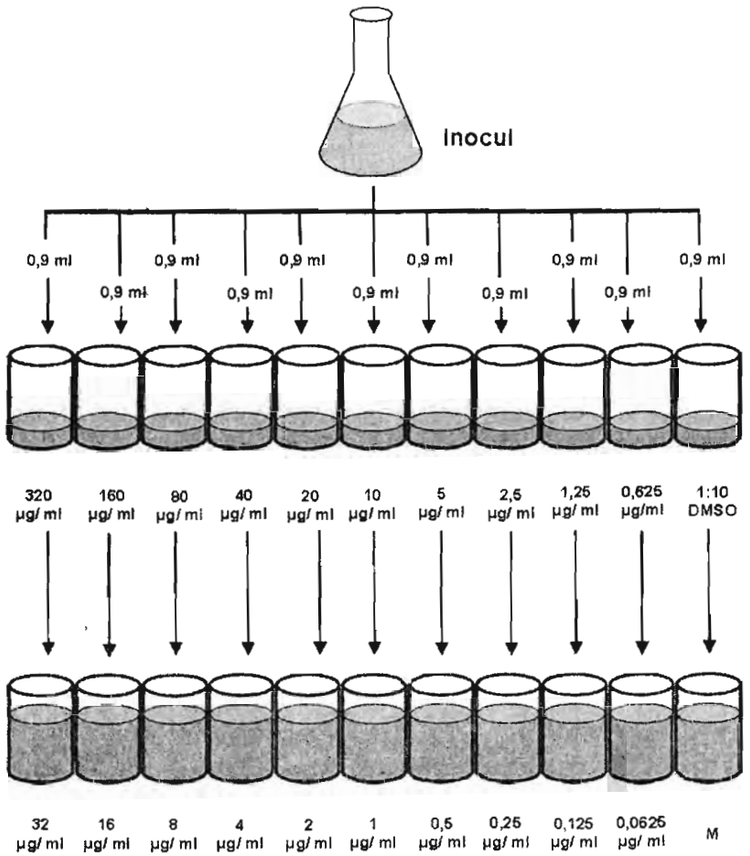


Fig. 1. Inocularea flacoanelor conţinând diluţiile intermediare de propiconazol nitrat

tulpină testată şi un martor de creştere obţinut prin adăugarea unui volum de 900 ěl inocul peste 100 µl diluţie 1 : 10 DMSO în SVSM (diluţia finală a DMSO - 1 : 100).

e) Incubarea flacoanelor inoculate 46-52 ore la 35° ± 0,1°C, fără agitare.

f) Citirea rezultatelor. Gradul de creştere în flacoanele conţinând agent antifungic l-am interpretat prin comparaţie cu cel existent în flacoanele martor (fără agent antifungic). Deoarece derivaţii azolici permit o creştere reziduală a levurilor în mediul de testare, se consideră că o inhibiţie de 80% a creşterii indică o acţiune antifungică satisfăcătoare. Astfel, am comparat vizual turbiditatea fiecărui flacon conţinând agentul antifungic cu turbiditatea unei diluţii 1 : 4 în SVSM a martorului de creştere (ceea ce corespunde unei inhibiţii de 80% a creşterii). CMI s-a considerat a fi cea mai mică concentraţie a agentului antifungic care produce o inhibiţie de 80% a creşterii (turbiditate identică sau mai slabă ca a martorului de control diluat 1 : 4).

g) Interpretarea rezultatelor. Deoarece nu se cunosc încă „punctele de ruptură" utile în interpretarea efectului antifungic al propiconazolului nitrat faţă de diversele tulpini aparţinând genului *Candida*, este destul de dificil şi hazardat de emis un rezultat cert privind sensibilitatea sau rezistenţa acestor tulpini. Singurele aprecieri cu caracter pragmatic sunt cele referitoare la concentraţiile minime inhibitorii pentru 50%, respectiv pentru 90% dintre tulpinile testate (CMI_{50}, respectiv CMI_{90}), precum şi aflarea *frecvenţei cumulative a CMI*-urilor. Pentru calcularea acestor indicatori statistici am utilizat programul *Excel* (*Microsoft Office XP Professional*), funcţiile „FREQUENCY" şi „PERCENTILE"

REZULTATE

Frecvenţa CMI-urilor nitratului de propiconazol în cazul celor 64 izolate levurice vaginale este prezentată în tabelul I.

Pe baza reprezentării grafice a frecvenţei cumulative a CMI-urilor celor 64 izolate aparţinând genului *Candida* (fig. 2) s-au determinat valorile CMI_{50} şi CMI_{90} (0,0625 µg/ml, respectiv 0,5 µg/ml).

Variabilitatea procentului de tulpini inactivate depinde de concentraţia propiconazolului nitrat în proporţie de 87,70%, coeficientul de corelaţie multiplă având valoarea R^2 = 0,877 (fig. 2). Regresia procentului de tulpini inactivate dependent de concentraţia antifungicului are următoarea ecuaţie: $y = 0.3953Ln(x) + 0.1916$.

DISCUŢII

Caracteristica principală a CMI-urilor este valoarea lor redusă (0,0625 ... 1,00 µg/ml), exprimată în condiţiile unui mediu de testare similar celui vaginal. Aceasta poate constitui un avantaj în cazul folosirii topice a nitratului de propiconazol ca posibil agent terapeutic al micozelor vulvovaginale. Deoarece acidul acetic 17 mM exercită o acţiune sinergică cu fluconazolul asupra tulpinilor de *Candida albicans* izolate din vulvovaginite candidozice determinând o reducere accentuată a CMI-urilor acestui antifungic (2) este posibil ca şi în cazul nitratului de propiconazol să intervină acelaşi mecanism care ar explica valoarea scăzută a CMI-urilor. Rămâne însă de demonstrat prin studii comparative *in vitro* dacă întradevăr structura mediului de testare are repercusiuni majore asupra valorii CMI.

Rezultatele obţinute sunt încurajatoare şi impun continuarea studiilor atât în direc-

TABELUL I

Frecvenţa CMI-urilor pentru tulpinile testate

Concentraţia µg/ml	0.0625	0.125	0.25	0.50	1	2	4	8	16	32
Frecvenţa relativă (%)	51,36	18,92	18,92	2,70	8,10	0	0	0	0	0

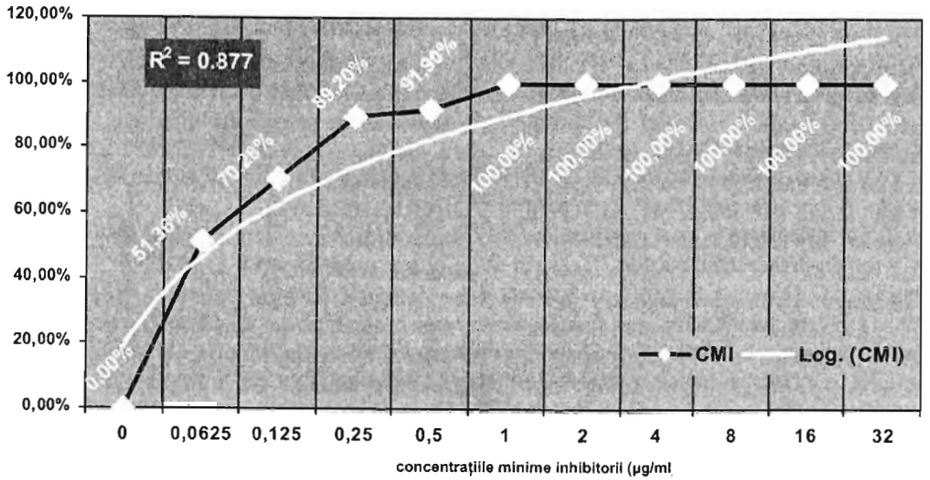


Fig. 2. Reprezentarea grafică a frecvenţei cumulative a CMI-urilor

ţia determinării "punctelor de ruptură" necesare cuantificării comportamentului diferitelor izolate levurice faţă de propiconazolul nitrat, cât şi în direcţia obţinerii de forme farmaceutice cu biodisponibilitate adecvată a substanţei active, utilizabile în terapia micozelor cu diverse localizări.

CONCLUZII

Pentru derivatul de propiconazol studiat, caracteristica principală a CMI-urilor este valoarea lor redusă (0,0625 ... 1,00 µg/ml), exprimată în condiţiile unui mediu de testare similar celui vaginal. Aceasta poate constitui un avantaj în cazul folosirii topice a nitratului de propiconazol ca posibil agent terapeutic al micozelor vulvovaginale.

În ceea ce priveşte evaluarea efectului antifungic al acestui nou derivat de propiconazol într-un mediu sintetic similar celui vaginal, studiile întreprinse au proritate mondială, consultarea literaturii de specialitate nerelevând prezenţa unor studii similare.

Rezultatele obţinute sunt încurajatoare, confirmă proprietăţile antifungice ale nitratului de propiconazol furnizate de alte studii (4) şi impun continuarea cercetărilor atât în direcţia determinării "punctelor de ruptură" necesare cuantificării comportamentului diferitelor izolate levurice faţă de acest derivat, cât şi în direcţia obţinerii de forme farmaceutice cu biodisponibilitate adecvată a substanţei active, utilizabile în terapia micozelor cu diverse localizări.

BIBLIOGRAFIE

1. Valica V. *Teză de doctorat*. Chişinău : Universitatea de Medicină şi Farmacie „N. Testemiţanu", 2003.
2. Moosa M-YS, Sobel JD, Elhalis H, Du W, Akins R. Fungicidal activity of fluconazole against *Candida albicans* in a synthetic vagina-simulative medium. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 ; 48 (1) : 161-167.
3. ***. *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts M27-A2*. Approved Standard. 2nd edition. Wayne ; CLSI, 2002.
4. Mareş M, Ştefanache A, Patraş X et al. Antifungal activity of a novel propiconazole derivative. *Proceedings of 12th Panhellenic Pharmaceutical Congress*. Athens ; 2005.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

SINTEZA ŞI ACTIVITATEA ANTIMICROBIANĂ A UNOR (SULFON-AMIDOFENIL)-AMIDE ALE N-(m-NITROBENZOIL)-D,L-METIONINEI

Otilia Pintilie[1], V. Şunel[1], Lenuţa Profire[2], A. Pui[3]
Universitatea. "Al.I. Cuza" Iaşi
Facultatea de Chimie
1 Catedra de Chimie Organică şi Biochimie
3 Catedra de Chimie Anorganică
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
2 Disciplina de Chimie Farmaceutică

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME NEW (SULFON-AMIDO-PHENYL)-AMIDE DERIVATIVES OF N-(m-NITROBENZOYL)-D,L-METHIONINE (Abstract) : In order to obtain new compounds with potential antimicrobial activity some new (sulfon-amidophenyl)-amide derivatives of N-(m-nitrobenzoil)-D,L-methionine have been synthesized. The compounds have been obtained by decyclization reaction of 2-(m-nitrophenyl)-4-(β-methyl-thioethyl)- Δ^2-5-oxazolinone with various sulfonamides. The chemical structure of the new sulfonamides was confirmed by elemental analysis data and IR and ^{1}NMR spectral measurements. The compounds were also investigated for their antimicrobial activity using *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Proteus vulgaris* strains.
Key words : D,L-METHIONINE, SULFONAMIDE DERIVATIVES, ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Acţiunea antimicrobiană, mai precis bacteriostatică a sulfamidelor, un grup de chimioterapice descoperite în 1953 (1), se datorează unui mecanism competitiv pentru acidul p-aminobenzoic şi acidul folic, rezultatul fiind inhibarea sintezei de dihidropteroat şi alţi compuşi indispensabili multiplicării celulelor bacteriene (2,3). Sulfamidele sunt utilizate în tratamentul diverselor infecţii provocate de microorganisme din grupul cocilor Gram-pozitivi şi Gram-negativi, precum şi al bacililor Gram-negativi (4,5).

Pe de altă parte, D,L-metionina este cunoscută pentru importanţa sa asupra organismului având acţiune hepatoprotectoare (6), antiinflamatoare şi moderat analgezică (7), antioxidantă (8), precum şi de protejare a sistemului nervos în cazul bolnavilor de SIDA (9, 10).

Pornind de la aceste considerente, ne-am propus să sintetizăm o serie de (sulfon-amidofenil)-amide ale N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metioninei, prin reacţia de deciclizare a 2-(m-nitrofenil)-4-(β-metil-tioetil)-Δ^2-5-oxazolinonei cu sulfanilamidă, sulfatiazol, sulfafenazol şi sulfametoxidiazină.

MATERIAL ŞI METODĂ

(Sulfonamido-fenil)-amidele (II-V) au fost obţinute prin reacţia de deciclizare a 2-(m-nitrofenil)-4-(β-metil-tioetil)-Δ^2-5-oxazolinonei (I) sub acţiunea sulfanilamidei, sulfatiazolului, sulfafenazolului şi respectiv, sulfametoxidiazinei (fig. 1).

Reacţia are loc prin atacul nucleofil al grupării aminice a sulfamidelor asupra grupării carbonil din oxazolonă, conducând la

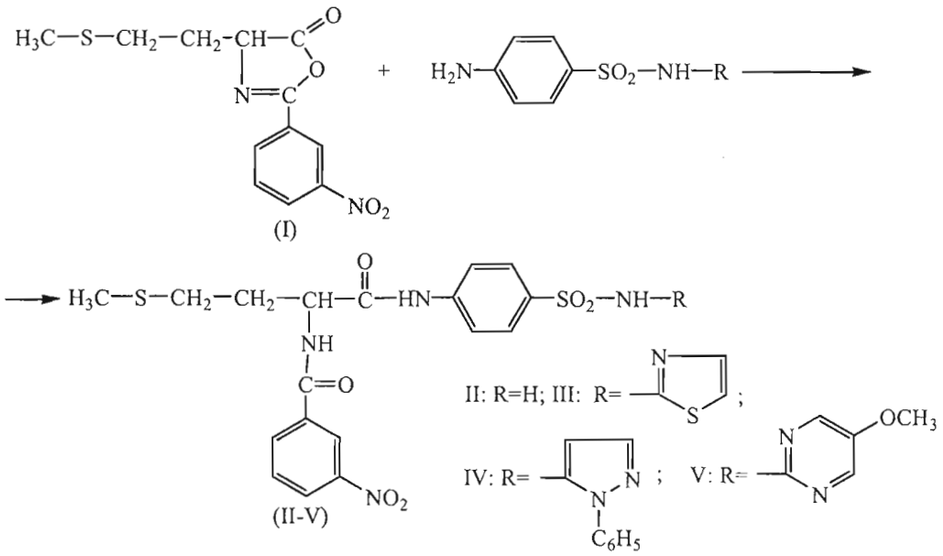


Fig. 1. Sinteza (sulfonamido-fenil)-amidelor (II-V)

noi sulfamide cu suport de N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metionină. Δ^2-5-Oxazolinonele sunt cunoscute pentru marea lor afinitate faţă de diverşi agenţi nucleofili (11). Reactivitatea pronunţată a Δ^2-5-oxazolinonelor faţă de compuşi ce conţin grupări aminice este determinată, pe de o parte, de comportarea grupării carbonil din poziţia 5 mai mult ca o grupare cetonică decât ca o grupare lactamică, iar pe de altă parte, de bazicitatea pronunţată a aminelor (12,13).

Sinteza (sulfon-amidofenil)-amidelor N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metioninei (II-V) (procedură generală). Într-un balon prevăzut cu refrigerent pentru reflux se introduc 0,0018 moli 2-(m-nitrofenil)-4-(β-metiltioetil)-Δ^2-5-oxazolinonă (I) şi 10 ml dioxan. După solubilizarea oxazolonei, se adaugă 0,0018 moli sulfamidă dizolvată în 10 ml dioxan. Amestecul de reacţie se încălzeşte pe baie de ulei siliconic, la 115-120°C, timp de 5 ore. După răcire şi evaporarea dioxanului, se formează un clei maroniu, care se spală de câteva ori cu eter de petrol, până când se transformă într-o pulbere fină. Produsul solid se recristalizează din amestec metanol-eter de petrol.

Activitatea antimicrobiană a compuşilor (II-V) s-a studiat folosind tulpinile: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Listeria monocytogenes* şi *Proteus vulgaris*, urmărindu-se comportamentul tulpinilor bacteriene atât faţă de noile sulfamide obţinute, cât şi faţă de sulfamidele din care provin, respectiv: sulfanilamidă, sulfatiazol, sulfafenazol şi sulfametoxidiazină. În acest sens, s-a aplicat metoda difuzimetrică Kirby-Bauer, testările efectuându-se pe agarul Mueller-Hinton, cu incubare 18 ore, la 37°C. Conform reglementărilor internaţionale, diametrul zonei de inhibiţie pentru încadrarea tulpinilor în categoria sensibilă / rezistentă sunt: *sensibil (S)* - >17 mm, *intermediar sensibil (I)* - 13-16 mm şi *rezistent (R)* - <12 mm (14).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Sulfamidele obţinute sunt substanţe solide, de culoare maronie, insolubile în apă şi eter de petrol, solubile în acetonă, etanol, DMF, DMSO.

Structura chimică a compuşilor (II-V) a fost confirmată prin analiză elementală şi spectrală IR şi ^{1}H-RMN. Astfel, în spectrele IR apare o bandă intensă la 3025-3383 cm^{-1} caracteristică grupării NH amidice, iar la 1648-1660 cm^{-1} banda corespunzătoare grupării CO amidice. Gruparea NO_2 determină prezenţa în spectrul IR a două benzi, la 1348-1354 cm^{-1} şi 1528-1538 cm^{-1}, corespunzătoare vibraţiei simetrice şi asimetrice. Gruparea SO_2 este prezentă în spectrul IR prin două benzi, la 1154-1168 cm^{-1} şi 1258-1268 cm^{-1}, caracteristice vibraţiei simetrice şi asimetrice. Nucleului aromatic m- şi respectiv, p-substituit îi corespund benzile de la 815-858 cm^{-1} şi 902-924 cm^{-1}, în timp ce la 732-752 cm^{-1} apare o bandă atribuită grupării tioeterice din restul de metionină.

În spectrul ^{1}H-RMN, grupările NH amidice sunt prezente prin semnalele de la δ 9,08-9,82 ppm. Protonii aromatici dau semnale la valori ale δ cuprinse în intervalul 7,08-8,72 ppm. În regiunea 2,50-4,52 ppm apar semnale atribuite protonilor din catena alifatică a restului de metionină. Gruparea tioeterică este prezentă în spectrul ^{1}H-RMN printr-un singlet la δ 2,08-2,12 ppm.

N'-(p'-sulfon-amidofenil)-amida N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metioninei (II)

p.t. = 82-83°C, η = 67,26 %.

IR (KBr): 3040-3367 cm^{-1} (NH amidic); 1648 cm^{-1} (CO amidic); 1530 cm^{-1} (NO_2 asim.); 1350 cm^{-1} (NO_2 sim.); 1258 cm^{-1} (SO_2 asim.); 1154 cm^{-1} (SO_2 sim.); 924 cm^{-1} (CH aromatic p-substituit); 858 cm^{-1} (CH aromatic m-substituit); 752 cm^{-1} (CH_3S); 568 cm^{-1} (SO_2-N).

^{1}H-RMN (DMSO, 400MHz): δ (ppm) 2,08 (s, 3H, CH_3); 2,51 (m, 4H, CH_2); 4,5 (t, 1H, CH); 6,4 (s, 2H, NH_2); 7,08 (d, 2H, Ar); 7,19 (d, 2H, Ar); 7,80 (t, 1H, Ar); 8,34 (d, 1H, Ar); 8,42 (d, 1H, Ar); 8,71 (s, 1H, Ar); 9,08 (d, 1H, NH); 9,64 (s, 1H, NH).

Analiza pentru: $C_{18}H_{20}N_4O_6S_2$ (Mr=452)

Calculat: C% 47,78, H% 4,42, N% 12,38, S% 14,15

Găsit: C% 47,56, H% 4,14, N% 12,03, S % 14,84

N'-[(N''-tiazolil)-(p'-sulfon-amidofenil)-amida N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metioninei (III)

p.t. = 98-99°C, η = 74,87 %

IR (KBr): 3008-3341 cm^{-1} (NH amidic); 1660 cm^{-1} (CO amidic); 1528 cm^{-1} (NO_2 asim.); 1345 cm^{-1} (NO_2 sim.); 1262 cm^{-1} (SO_2 asim.); 1168 cm^{-1} (SO_2 sim.); 902 cm^{-1} (CH aromatic p-substituit); 815 cm^{-1} (CH aromatic m-substituit); 732 cm^{-1} (CH_3S); 504 cm^{-1} (SO_2-N).

^{1}H-RMN (DMSO, 400MHz): δ (ppm) 2,08 (s, 3H, CH_3); 2,54 (m, 4H, CH_2); 4,5 (t, 1H, CH); 5,8 (d, 1H, CH); 6,10 (d, 1H, CH); 6,5 (s, 1H, NH); 7,41 (d, 2H, Ar); 7,52 (d, 2H, Ar); 7,81 (t, 1H, Ar); 8,32 (d, 1H, Ar); 8,45 (d, 1H, Ar); 8,72 (s, 1H, Ar); 9,08 (d, 1H, NH); 9,61 (s, 1H, NH).

Analiză pentru: $C_{21}H_{21}N_5O_6S_3$ (Mr=535)

Calculat: C% 47,10, H% 3,92, N% 13,08, S% 17,94

Găsit: C % 46,83, H% 3,87, N% 13,15, S% 18,14

N'-[N''-(1-fenil-pirazol-5-il)-(p'-sulfon-amidofenil)-amida N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metioninei (IV)

p.t. =108-109°C, η = 72,86 %

IR (KBr): 3154-3383 cm^{-1} (NH amidic); 1648 cm^{-1} (CO amidic); 1535 cm^{-1} (NO_2 asim.); 1352 cm^{-1} (NO_2 sim.); 1268 cm^{-1} (SO_2 asim.); 1161 cm^{-1} (SO_2 sim.); 908 cm^{-1} (CH aromatic p-substituit); 832 cm^{-1} (CH aromatic m-substituit); 735 cm^{-1} (CH_3S); 512 cm^{-1} (SO_2-N).

^{1}H-RMN (DMSO, 400MHz): δ (ppm) 2,12 (s, 3H, CH_3); 2,50 (m, 4H, CH_2); 4,50 (t, 1H, CH); 6,12 (d, 1H, CH); 6,25 (d,1H, CH); 6,80 (s, 1H, NH); 7,21 (t, 1H, Ar); 7,32 (t, 2H, Ar); 7,48 (d, 2H, Ar); 7,62 (d, 2H, Ar); 7,73 (d, 2H, Ar); 7,84 (t, 1H, Ar); 8,31 (d, 1H, Ar); 8,42 (d, 1H, Ar); 8,70 (s, 1H, Ar); 9,08 (d, 1H,

NH); 9,72 (s,1H, NH).

Analiză pentru: $C_{27}H_{26}N_6O_6S_2$ (Mr=594).

Calculat: C% 54,54, H% 4,37, N% 14,14, S% 10,77

Găsit: C% 54,79, H% 4,15, N% 14,22, S% 10,84

N'-[N''-(5-metoxipirimidil)-(p'-sulfonamidofenil)-amida N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metioninei (V)

p.t. = 80-81°C, η = 74,13 %

IR (KBr): 3025-3378 cm^{-1} (NH amidic); 1650 cm^{-1} (CO amidic); 1538 cm^{-1} (NO_2 asim.); 1354 cm^{-1} (NO_2 sim.); 1264 cm^{-1} (SO_2 asim.); 1165 cm^{-1} (SO_2 sim.); 912 cm^{-1} (CH aromatic p-substituit); 832 cm^{-1} (CH aromatic m-substituit); 738 cm^{-1} (CH_3S); 509 cm^{-1} (SO_2-N).

^{1}H-RMN (DMSO, 400MHz): δ (ppm) 2,10 (s, 3H, CH_3); 2,51 (m, 4H, CH_2); 3,90 (s, 3H, CH_3); 4,52 (t, 1H, CH); 6,82 (s, 1H, NH); 7,12 (s, 1H, CH); 7,38 (s, 1H, CH); 7,45 (d, 2H, Ar); 7,52 (d, 2H, Ar); 7,81 (t, 1H, Ar); 8,31 (d, 1H, Ar); 8,42 (d, 2H, Ar); 8,72 (s, 1H, Ar); 9,08 (d, 1H, NH); 9,82 (s,1H, NH).

Analiză pentru: $C_{23}H_{24}N_6O_7S_2$ (Mr=560).

TABELUL I

Diametrul zonei de inhibiţie (mm)

Tulpina bacteriană	Compusul	1 mg	2 mg	5 mg	10 mg	20 mg
Staphylococcus aureus	sulfanilamidă	-	-	22-23	22-23	27-28
	II	18-19	18-19	22-23	22-23	22-23
	sulfatiazol	24-25	25-26			
	III	-	-	-	-	-
	sulfafenazol	-	20-22	20-22		
	IV	17-18	20-22	23-24		
	sulfametoxidiazină	-	-	13-14	14-15	16-17
	V	-	-	13-14	13-15	17-18
Escherichia coli	sulfanilamidă	-	-	13-14	18-19	20-21
	II	10-11	14-15	17-18	17-18	20-21
	sulfatiazol	20-21	20-21			
	III	-	-			
	sulfafenazol	-	20-22	20-22	22-23	
	IV	15-16	20-22	22-23	22-23	
	sulfametoxidiazină	-	15-16	15-16	15-16	16-17
	V	-	14-15	15-16	15-16	16-17
Listeria monocytogenes	sulfanilamidă	15-16	22-23			
	II	14-15	20-21			
	sulfatiazol	8-10	20-21	20-23		
	III	10-11	22-24	20-24		
	sulfafenazol	-	-	-	-	20-22
	IV	14-15	20-22	22-23		
	sulfametoxidiazină	-	-	-	8-10	25-28
	V	-	-	-	8-9	25-26
Proteus vulgaris	sulfanilamidă	-	-	14-15	17-18	20-21
	II	10-11	17-18	18-19	18-19	20-21
	sulfatiazol	8-9	18-19	18-19	20-21	
	III	-	-	-	-	
	sulfafenazol	-	-	-	-	-
	IV	17-18	18-19	22-23		
	sulfametoxidiazină	-	14-15	14-15	14-15	17-18
	V	-	14-15	14-15	14-15	16-17

Calculat: C% 49,28, H% 4,28, N% 15,00, S% 11,42

Găsit: C% 48,89, H% 4,04, N% 14,86, S% 11,23

Activitatea antimicrobiană a sulfamidelor sintetizate, la diferite concentraţii, exprimată prin diametrul zonei de inhibiţie a dezvoltării culturilor de germeni (mm), este prezentată în tabelul I.

Testele biologice au evidenţiat activitatea antimicrobiană a sulfamidelor (II-V) la concentraţii mai mari de 1 mg, intensitatea efectului fiind dependentă de natura tulpinilor bacteriene şi de structura chimică a sulfamidelor testate. Astfel, sulfamidele (II) şi (IV) se încadrează în categoria "sensibil" faţă de toate tulpinile testate, la diferite concentraţii, cea mai activă fiind sulfamida (IV).

Sulfamida (V) are acţiune moderată de inhibare a dezvoltării tulpinilor de *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* şi *Proteus vulgaris* şi este sensibilă faţă de *Listeria monocytogenes* doar la concentraţii foarte mari (20 mg).

Sulfamida (III) este activă numai faţă de *Listeria monocytogenes* la concentraţii mai mari de 1 mg, celelalte tulpini manifestând rezistenţă faţă de această sulfamidă.

În comparaţie cu sulfamidele utilizate ca probe de referinţă, se constată că sulfamidele (II) şi (IV) manifestă activitate antimicrobiană moderată la concentraţii sub 5 mg, în timp ce probele martor sunt inactive la aceleaşi concentraţii. Pe măsură ce concentraţia creşte, activitatea biologică a sulfamidelor (II) şi (IV) este comparabilă cu cea a probelor-martor.

Comparativ cu sulfatiazolul, care este activ chiar la concentraţii mai mici de 5 mg, sulfamida (III) este inactivă faţă de germenii analizaţi, cu excepţia tulpinii de *Listeria monocytogenes*.

Sulfamida (V) prezintă activitate antimicrobiană moderată, comparabilă cu cea a probei-martor, sulfametoxidiazina, la concentraţii mai mari de 5 mg.

CONCLUZII

S-au sintetizat patru noi sulfamide cu suport de N-(m-nitrobenzoil)-D,L-metionină, prin deciclizarea 2-(m-nitrofenil)-4-(β-metil-tioetil)-Δ^2-5-oxazolinonei sub acţiunea sulfanilamidei, sulfatiazolului, sulfafenazolului şi respectiv sulfametoxidiazinei. Structura chimică a noilor compuşi a fost confirmată prin analiză elementală şi spectrală IR şi ^{1}H-RMN.

S-a studiat activitatea antimicrobiană a noilor sulfamide în raport cu sulfamidele din care s-au obţinut. Testările efectuate au permis evidenţierea capacităţii acestor substanţe de a inactiva germeni Gram-pozitivi şi Gram-negativi în funcţie de concentraţie şi de specia bacteriană testată. Toate sulfamidele sintetizate prezintă activitate antimicrobiană la concentraţii mai mari de 1 mg.

BIBLIOGRAFIE

1. Dăescu C. *Chimia şi tehnologia medicamentelor*. Bucureţti: Ed. Didactică şi Pedagogică, 1994; 236-260.
2. Micklefield J, Fettes KJ. Sulphonamide: synthesis, spectroscopic characteriza-tion and biological screening. *Tetrahedron Lett* 1997; 38: 5387-5390.
3. Joshi S, Khosla N, Khare D, Tiwari P. Synthesis and antibacterial screening of novel sulphonamide Mannich bases. *Acta Pharm* 2002; 52: 197-206.
4. Jain M, Singh V. Biologically potent sulphonamid. *J Iranian Chem* Soc 2004; 1: 20-28.
5. Portel N, Roval AD, Madamwar D, Sinha JM. Synthesis, release study and antimicrobial propertis of aminoacids derivatives. *Angew Makromol Chem* 1997; 245: 1-8.
6. Neuvonen PJ, Tokola O, Toikonen ML, Simell O. Methionine in paracetamol tablets, a tool to reduce paracetamol toxicity. *J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1985; 23: 497-500.

7. Guo Z, Hambley T, del Socorro-Murdoch P, Sandler P, Frey U. Chelate-ring-opened adducts of şPt(en)(Me-Mal-O,O')ţ (en = ethane-1,2-diamine, Me-Mal = 2-methylmalonate) with methionine derivatives. *J Chem Soc Dalton Trans* 1997 ; 4 : 469-475.
8. Moskovitz J, Bar-Noy S, Williams WM, Requena J, Berlett BS, Stadman ER. Methionine-sulfoxide reductase is a regulator of antioxidant defense and lipespan in mamals. *Proc Natl Acad Sci* 2001 ; 98 (23) : 12920-12925.
9. Muller F, Svardal AM, Aukrust P. Elevated plasma concentration of reduced homocysteine in patients with Human Immunodeficiency Virus Infectio. *Am J Clin Nutr* 1996 ; 63 : 242-249.
10. Revillard JP, Vincent CM, Favler AE. Lipid peroxidation in Human Immunodeficiency Virus Infection. *J Acquir Immunodefic Syndr* 1992 ; 5 : 637-644.
11. Rakesh N, Desai KR. Studies on synthesis of some novel heterocyclic azlactone derivatives and imidazolinone derivatives and their antimicrobial activity. *Eur J Chem* 2005 ; 2 (6) : 396-402.
12. Cheng D, Chan W, McKeithan T, Nickerson K. Surface Display of Recombinant Proteins on Bacillus thuriengiensis Spores. *Appl and Environ Microbiology* 2005 ; 71 (6) : 3337-3345.
13. El Nour H, Lundeberg L, Boman A et al. Study of Innervation Sensory Neuropeptides and Serotonin in Murine Contact Allergic Skin. *Immunopharm and Immunotox* 2005 ; 27 (1) : 67-75.
14. *** National Committee for Clinical Laboratory Standard. *Methods for diluation antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.* Aproved Standard M7-A2. Vilanova : P.A., 1990.

NOUTĂŢI

FUNCŢIILE GUANILATCICLAZEI 1 ŞI 2 ASUPRA FUNCŢIONĂRII FOTORECEPTORILOR DIN CELULELE CU BASTONAŞ ŞI CELE CU CON

Guanilatciclazele 1 şi 2 (GC 1 şi GC 2) din retină sunt responsabile de sintetizarea guanozin-3'-5'-monofosfatului ciclic (GMP ciclic) în celulele cu bastonaşe şi în cele cu conuri, dar contribuţia lor individuală la fototransducţie este necunoscută. Deleţia genelor care codifică GC 1 şi 2 a dus la nefuncţionalitatea şi instabilitatea fotoreceptorilor din celulele cu con şi cu bastonaşe. În segmentele marginale ale celulelor cu bastonaşe de la şoarecii dublu knock-out proteinele activatoare 1 şi 2 ale guanilatciclazei precum şi GMP - fosfodiesteraza nu au fost detectate, deşi subunităţile α din rodopsină şi transducină nu au fost afectate, în mare parte. Membranele segmentelor marginale din celulele cu con de la şoarecii dublu knock-out s-au destabilizat şi nu mai conţin transducină (subunităţi α şi γ), fosfodiesterază şi kinaza 1 a proteinei G (cuplată cu un receptor) , pe când pigmenţii din celulele cu conuri sunt prezenţi în cantităţi mici. Analizele prin transcripţie inversă au demonstrat existenţa nivelelor normale de transcripţie pentru proteinele a căror sintetizare este reglată negativ (down regulation), sugerând că reglarea negativă a sintetizării este posttranziţională. Aceste rezultate sunt interpretate pentru a explica modul în care guanilatciclazele afectează stabilitatea şi/sau transportul unui set de proteine membranare cu rol în fototransducţie (Baehr W, Karan S, Maeda T et al. The function of guanylate cyclase 1 and guanylate cyclase 2 in rod and cone photoreceptors. *J Biol Chem* 2007 ; 282 (12) : 8837-8847).

B. Şlencu

DETERMINAREA SPECTROFOTOMETRICĂ ÎN VIZIBIL A ADRENALINEI

Nela Bibire, L. Christopoulos, M. Apostu, V. Dorneanu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
Disciplina de Chimie Analitică

QUANTITATIVE DETERMINATION OF ADRENALINE BY VISIBLE SPECTROPHOTOMETRIC METHOD (Abstract) : A sensible and rapid spectrophotometric assay for adrenaline was developed. **Material and method** : The method is based on the reaction with ammonium molybdate and sodium nitrite in acid medium. **Results** : The obtained compound is stable, soluble in water and has the absorbtion maximum at 405 nm. Beer's law is valid within a concentration range of 20-160 μg /mL. The validity of the method was tested by statistical analysis of the experimental data using the linearity, the scale's calibration factor, the detection limit, the quantification limit and the precision. **Conclusions** : A new method for the assay of adrenaline in pharmaceutical products has been developed. **Key words** : ADRENALINE, SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

Medicamentele simpatomimetice (adrenergice) reproduc efectele stimulării fibrelor nervoase simpatice care inervează muşchii netezi, miocardul şi glandele exocrine. Ele acţionează la nivelul sinapselor neuroefectoare simpatice fie direct, activând receptorii adrenergici, fie indirect, influenţând metabolismul mediatorilor chimici.

Din punct de vedere chimic, adrenalina este (R)-1-(3,4-dihidroxifenil)-2-(metilamino) etanol (fig. 1).

Determinarea cantitativă a adrenalinei din produse farmaceutice şi din medii biologice a constituit subiectul multor lucrări ştiinţifice din domeniu ; astfel în literatura de specialitate sunt citate numeroase metode de determinare spectrofotometrică pentru adrenalină şi alte catecolamine (1,2,3,4).

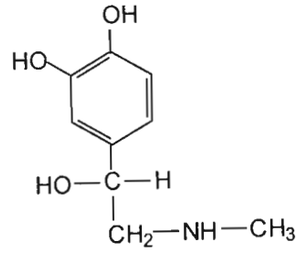


Fig. 1. Structura chimică a adrenalinei

MATERIAL ŞI METODA

Adrenalina formează cu molibdatul de amoniu şi nitritul de sodiu în mediu acid un compus de culoare galbenă, solubil în apă, care poate fi determinat spectrofotometric în VIS la lungimea de undă, λ = 405 nm.

Reactivi şi aparatură

- Soluţie stoc de adrenalină 200 μg/mL ;
- Soluţii etalon de adrenalină (concentraţii cuprinse între 20 - 160 μg/mL) preparate din soluţia stoc de adrenalină prin diluare cu apă distilată ;
- Soluţie apoasă de molibdat de amoniu 1% ;
- Soluţie apoasă de nitrit de sodiu 2% ;
- Soluţie HCl 2 mol/L ;
- Spectrofotometru UV - VIS H.P. 8453.

Metodă

Se măsoară cu precizie câte 1 mL de soluţie etalon de adrenalină (concentraţii cuprinse între 20 - 160 μg/mL), se adaugă câte 2 mL soluţie apoasă de molibdat de amoniu 1% şi se agită; se adaugă câte 1 mL soluţie HCl 2 mol/L şi câte 1 mL soluţie apoasă de nitrit de sodiu 2 %.

După 5 minute se citeşte absorbanţa soluţiilor obţinute, faţă de un martor preparat în aceleaşi condiţii, la lungimea de undă λ = 405 nm.

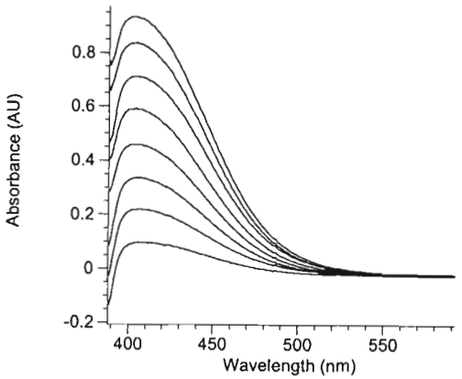


Fig. 2. Variaţia absorbanţei compusului studiat funcţie de concentraţia de adrenalină

REZULTATE ŞI DISCUŢII

În scopul validării metodei de analiză au fost studiaţi următorii parametri: liniaritatea, precizia, acurateţea, limita de detecţie şi limita de cuantificare.

TABELUL I

Datele folosite la trasarea curbei de etalonare pentru determinarea cantitativă spectrofotometrică a adrenalinei

Nr. crt.	Adrenalina μg/mL	Absorbanţa					
		Seria 1	Seria 2	Seria 3	Medie	Valoarea predictivă	Valoarea reziduală
1	20	0,09703	0,09725	0,09711	0,09713	0,103455383	0,103455383
2	40	0,22064	0,22077	0,22050	0,22063	0,149722598	0,149722598
3	60	0,33665	0,33681	0,33673	0,33673	0,195989812	0,195989812
4	80	0,46012	0,46036	0,46028	0,46025	0,288524241	0,288524241
5	100	0,59166	059178	0,59172	0,59172	0,381058670	0,381058670
6	120	0,71194	0,71201	0,71199	0,71198	0,427325884	0,427325884
7	140	0,83525	0,83540	0,83533	0,83532	0,473593099	0,473593099
8	160	0,93244	0,93261	0,93253	0,93252	0,519860313	0,519860313

Ecuaţia dreptei de regresie Abs = 0,006059 · Conc. - 0,02199
Ordonata la origine, b = - 0,02199
Panta, a = 0,006059

Coeficientul de corelaţie r = 0,999638
r^2 = 0,999276

Deviaţia standard S = 0,008630057

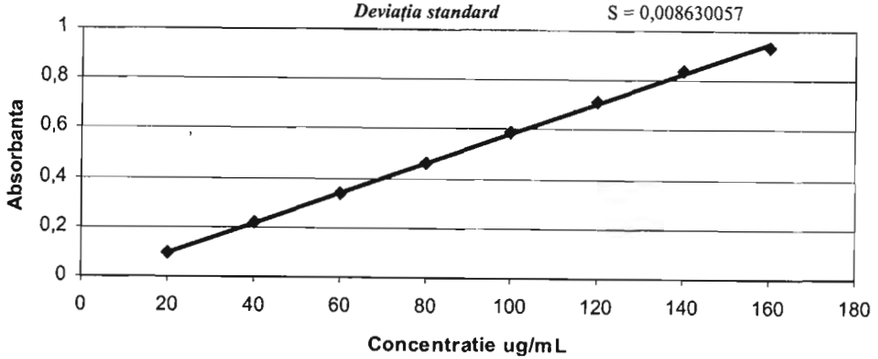


Fig. 3. Curba de etalonare

Liniaritatea metodei

Intervalul de liniaritate al metodei a fost studiat prin efectuarea a 3 serii de determinări pentru concentraţii de adrenalină cuprinse între 20 μg/mL şi 160 μg/mL.

În figura 2 este prezentată variaţia absorbanţei compusului obţinut funcţie de cantitatea de adrenalină în domeniul de concentraţii studiat.

În continuare sunt prezentate rezultatele obţinute şi prelucrarea statistică (tab. I) precum şi curba de etalonare (fig. 3).

Limita de detecţie (LD) a metodei

LD = S x 3 / a = 0,008630057 x 3 / 0,006059 = 4,273295 μg/mL adrenalină

Limita de cuantificare (LQ) a metodei

LQ = S x 10 / a = 0,008630057 x 10 / 0,006059 = 14,24432 μg/mL adrenalină

unde S este deviaţia standard a dreptei de regresie şi a este panta.

Precizia metodei

Precizia metodei a fost evaluată pe trei concentraţii de adrenalină: 80 μg/mL, 100 μg/mL şi 120 μg/mL, prin efectuarea a două serii de determinări, în zile diferite cu reactivi provenind din surse diferite; pentru fiecare concentraţie au fost efectuate câte trei determinări pe serie.

Rezultatele calculate statistic privind repetabilitatea metodei sunt redate în tabelele II şi III.

În scopul aprecierii reproductibilităţii

TABELUL II

Repetabilitatea metodei: Seria nr. 1, date statistice

Parametru statistic	Valoare
Regăsirea medie	99,815%
Deviaţia standard	1,066549
Coeficientul de variaţie	1,068520%
Intervalul de încredere (P = 95%, t = 2,306, n = 9)	99,815 ± 0,819823

TABELUL III

Repetabilitatea metodei: Seria nr. 2, date statistice

Parametru statistic	Valoare
Regăsirea medie	99,824%
Deviaţia standard	1,074675
Coeficientul de variaţie	1,076565%
Intervalul de încredere (P = 95%, t = 2,306, n = 9)	99,824 ± 0,826069

TABELUL IV

Reproductibilitatea metodei: date statistice

Parametru statistic	Valoare
Regăsirea medie	99,820%
Deviaţia standard	1,038664
Coeficientul de variaţie	1,040537%
Intervalul de încredere (P = 95%, t = 2,110, n = 18)	99,820 ± 0,516516

TABELUL V

Acurateţea metodei: date statistice

Parametru statistic	Valoare
Valoare medie $\overline{Xd}$	0,883744%
Deviaţia standard	0,532483
Intervalul de încredere (P = 95%, t = 2,110, n = 18)	0,883744 ± 0,264798

metodei au fost supuse prelucrării statistice rezultatele obţinute în cele două serii de determinări (tab. IV).

Acurateţea metodei

Acurateţea metodei a fost apreciată prin calcularea erorii relative (Xd) a regăsirii în intervalul de concentraţii cuprins între 80 - 120 μg/mL adrenalină.

În tabelul V sunt redaţi parametrii statistici calculaţi.

CONCLUZII

S-a elaborat o nouă metodă de determinare cantitativă spectrofotometrică a adrenalinei în VIS.

Metoda este liniară în domeniul de concentraţii cuprins între 20 - 160 μg/mL adrenalină cu un coeficient de corelaţie r = 0,999638; au fost calculate limita de detecţie (LD = 4,273295 μg/mL), limita de cuantificare (LQ = 14,24432 μg/mL), precizia (coeficientul de variaţie intra- şi interzilnic a fost sub limita maximă de 5%) şi acurateţea metodei (abaterea relativă a rezultatelor obţinute experimental faţă de valoarea teoretică a fost mai mică de 5%).

Această metodă urmează să fie aplicată la determinarea cantitativă a adrenalinei din soluţii injectabile.

BIBLIOGRAFIE

1. Sorouraddin MH, Manzoori JL, Kargarzadeh E, Haji-Shabani AM. Spectrophotometric determination of some catecholamine drugs using sodium bismuthate. *J Pharm Biomed Anal* 1998; 18 (4-5): 877-881.
2. Salem FB. Spectrophotometric and fluorimetric determination of catecholamines. *Anal Lett* 1993; 26 (2), 281-294.
3. Sankar DG, Sastry CSP, Reddy MN. Spectrophotometric determination of adrenaline and noradrenaline. *Indian-Drugs* 1991; 28 (6): 272-274.
4. El-Kommos M.E., Mohamed FA, Khedr AS. Spectrophotometric determination of epinephrine (adrenaline) and norepinephrine (noradrenaline) with sodium periodate. *Talanta* 1990; 37 (6): 625-627.

NOUTĂŢI

UTILITATEA BIOMARKERILOR ÎN BOALA CRONICĂ DE RINICHI

Diagnosticul şi îngrijirea bolii cronice de rinichi (CKD) va fi caracterizată în viitor de o creşterea a utilizării biomarkerilor - indicatori cantitativi pentru procesele fiziologice sau patologice, a căror variabilitate este continuă cu progresia procesului în sine. Biomarkerii „clasici" ai progresiei CKD - proteinuria cantitativă, procentajul de glomeruli sclerotici sau fibroza interstiţială. Validarea potenţialilor biomarkeri în studii prospective ca „surrogate endpoints" pentru rezultate clinice serioase este adesea complicată de un timp lung de latenţă până la rezultatul clinic final (de ex. end-stage renal disease). Seturile de date foarte dense rezultate din evaluările pe un număr mic de pacienţi poartă riscul semnificativ al modelului overfitting şi conduc la asocieri false. Noile metode analitice pot ajuta la descreşterea acestui risc. Este foarte probabil ca practica clinică să devină tot mai dependentă de biomarkeri (vectori) multipli folosiţi în combinaţie cu markeri de risc atât în diagnosticul precoce cât şi ca ghid de terapie (Lemley KV. An introduction to biomarkers: applications to chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 1849-1859).

Mihaela Munteanu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2007 - vol. 111, nr. 3

ISTORIA MEDICINEI

RELAŢII MEDICALE MOLDAVO-BĂNĂŢENE ÎN SECOLELE XIX ŞI XX

V. Feier, D. Teodorescu Brînzeu, Loriana Feier
Universitatea de Medicină şi Farmacie "V. Babeş" Timişoara
Facultatea Medicină
Disciplina de Dermatologie

MEDICAL RELATIONSHIPS BETWEEN MOLDAVIA AND THE BANAT IN THE 19th AND THE 20th CENTURIES (Abstract): The intellectual and medical relationships between Moldavia and the Banat were established already in 1833. At that time, Damaschin Bojincă was appointed professor in Jassy, and he was followed by Eftimie Murgu. At the end of June 1833, "The Society of Physicians and Naturalists of Jassy" was founded. Among its founders, we can mention Dr. Iacob Christian Stanislaus Czihak, Dr. Mihail Zotta and Dr. Constantin Vârnav. Eftimie Murgu became a honorary member of this prestigious society. Among its corresponding members were dr. Pavel Vasici Ungureanu and the military medical doctor Friderich Abl from Timişoara. In the first decade after the great Union, the number of general practitioners in the Banat was higher than the number of Bucharest graduates. After the Faculty of Medicine was set up at the West University in Timişoara (by the Order in Council of 4 May 1945), a number of valuable physicians and teachers from Jassy contributed significantly to laying the basis of a high quality medical school in Timisoara. **Key words**: THE SOCIETY OF PHYSICIANS AND NATURALISTS OF JASSY, PHYSICIANS FROM BANAT

Primele contacte medicale directe între oameni de cultură sau medici din Banat şi din Moldova se regăsesc în perioada domniei moldovene a lui Mihail Sturza (1834-1849). Acesta a înfiinţat la Iaşi în anul 1835 „Academia Mihăileană" (o şcoală superioară care corespundea Liceului şi Universităţii). Gheorghe Asachi a început să caute profesori bine pregătiţi. De aceea s-a adresat în primul rând, tinerilor români care au terminat Universităţile din Pesta şi Viena. Doi tineri bănăţeni au răspuns chemării sale: Damaschin Bojincă şi Eftimie Murgu. Amândoi aveau un bun renume, mai ales din răspunsurile date şi publicate sub formă de cărţi unei broşuri tipărite la Halle în 1823, în care Sava Tokoly ridica, din nou, problema originii poporului român şi a limbii române. Primul dintre aceştia care pleacă în Moldova este Damaschin Bojincă, încă din primăvara anului 1833. Eftimie Murgu şi-a înaintat şi el cererea de numire încă din aprilie 1832, dar, nu a sosit la Iaşi, decât în vara anului 1834, după ce a obţinut titlul de doctor în drept universal al Universităţii din Pesta (1). În toamna anului 1834, Murgu era la Iaşi, iar „Albina românească", îi anunţa sosirea şi programul cursurilor (2).

După cum a afirmat Victor Gomoiu, în cursul veacului al XVIII-lea nu a existat nici o mişcare medicală în Muntenia sau Moldova (3).

La finele lunii iunie a anului 1833 ia naştere „Societatea Medicilor şi Naturaliştilor din Iaşi". Printre fondatorii şi animatori trebuie reamintiţi:

- Dr. Iacob Christian Stanislaus Czihak - s-a născut în anul 1800 la Aschaffenburg, în Bavaria (3,4,5). A urmat studiile medicale la Heidelberg încununate cu disertaţia: „De graviditatae extrauterina accedit des-

criptio memorandae cujusdam graviditatis tubae dextrae" - Heidelberg (1820). S-a stabilit la Iaşi în anul 1825. Aici a stabilit relaţii cu ceilalţi colegi simţind acut necesitatea schimbului de opinii cu ceilalţi medici şi intelectuali. După înfiinţarea „Societăţii de Medici şi Naturalişti", în anul 1837, tipăreşte la Iaşi „Istoria naturală". A decedat la Aschaffenburg în data de 29 noiembrie 1887.

- Dr. Mihail Zotta - a efectuat studiile medicale la Viena pe care le-a absolvit în anul 1826 cu „Disertatio de colica saturnina" (4). La momentul înfiinţării societăţii era protomedicul Moldovei dar, după un an, s-a stabilit la Cernăuţi.
- Dr. Constantin Vârnav - s-a născut la 21 august 1806 în Hilişău, judeţul Dorohoi (4). A studiat Medicina la Pesta unde îşi absolvă studiile în anul 1836 cu disertaţia: "Rudimentum phisiographiae Moldaviae". In anul 1843, tipăreşte la Iaşi: "Despre holera epidemiciască". A fost şi el protomedic al Moldovei şi, de asemenea, deputat şi senator. A trecut la cele veşnice la 21 august 1877.
- Eftimie Murgu a fost ales membru de onoare al acestei societăţi la 6 februarie 1835 (6).

Între membrii corespondenţi ai prestigioasei societăţi medicale ieşene figurează şi doi bănăţeni :

1. Friederich Abl, medic militar din Timişoara, începînd cu anul 1840 (3,5,7).

2. Pavel Vasici Ungureanu din anul 1843 (3,5,8,9). După studiile liceale se înscrie la Universitatea de Medicină de la Pesta, pe care o absolvă la 4 august 1832. Teza sa de doctorat este intitulată „De peste Orientali quam consensu et autoritate Magifici Domin Praesidis ac Directoris spectabilis Domini Decani nec non Clarisimorum Dominorum Professorum pro Doctoris Laurea, summisquae in Medicina Honoribus ac privilegiis rite obtinendis in Alma ac Celeberrima Universitate Hungarica publicae eruditorum disquisitioni submitt Paulus Vaszits, Temesvariensis Chirurgiae Doctor et Artis Obstetriciae Magister. In Theses calci operi adnexas publice disputatibur in Palatio Majori die 4 August 1832. (Dissertation Inauguralis Medica). Budae (Typis Typogr. Regiae Universit. Hungarice)". Teza are 30 de pagini.

Teza este tipărită şi în limba română sub titlul savuros perceput astăzi: „Cuvântare încununătoare Mediciască. Despre ciuma răsăritului carea cu Învoirea şi Auctoritatea Domnului Preses Director, Strălucitului Domnului Decan şi luminaţilor Domnilor profesori pentru cununa Doctorească şi cele mai mari Cinste şi privilegii cu cuviinţă în Medicină a căpăta, în Mărita şi vestita Universitate Ungurească publicel al învăţaţilor cercări ostearne, Pavel Vasici Ungureanu din Temisoara, al Hirurghiei Doctor şi al Măiestriei de moşit Maghistru in Buda" (Cu tipariul Cr. Tipografii Universitatei) din Pesta (1832) - 46 pagini în chirilice. Aceasta reprezintă prima teză de doctorat tipărită în limba română concomitent cu cea în limba oficială a Universităţii.

Dar, încă înainte cu un an (1831), tipăreşte la aceeaşi tipografie: "Dietetica sau Învăţătura de a păstra întreaga sănătate: a domoli boalele, a se feri de primejdia morţii şi a se mântui din trânsa. După prinţipurile a multor Doctori Învăţaţi oară mai vârtos a profesorilor săi scoasă, de Pavel Vasici Ungurian, în mărita şi Vestita Universitate, care în Pesta este in al 4-lea an al Mediţinei Auzitoriu Dietetic. În Buda (la Crăiasca Tipografie a Universităţii Ungureşti)" (fig. 1).

Cartea (scrisă în chirilice) a fost dedicată Preasfinţitului Domn Samuil Vulcan, din Mila lui Dumnezeu Episcopulu Românescu al Oradiei Mari.

În anul 1830 tipăreşte la Pesta „Antropologia sau scurtă cunoştinţă despre om" (fig. 2).

După terminarea studiilor medicale în capitala Ungariei, practică medicina timp

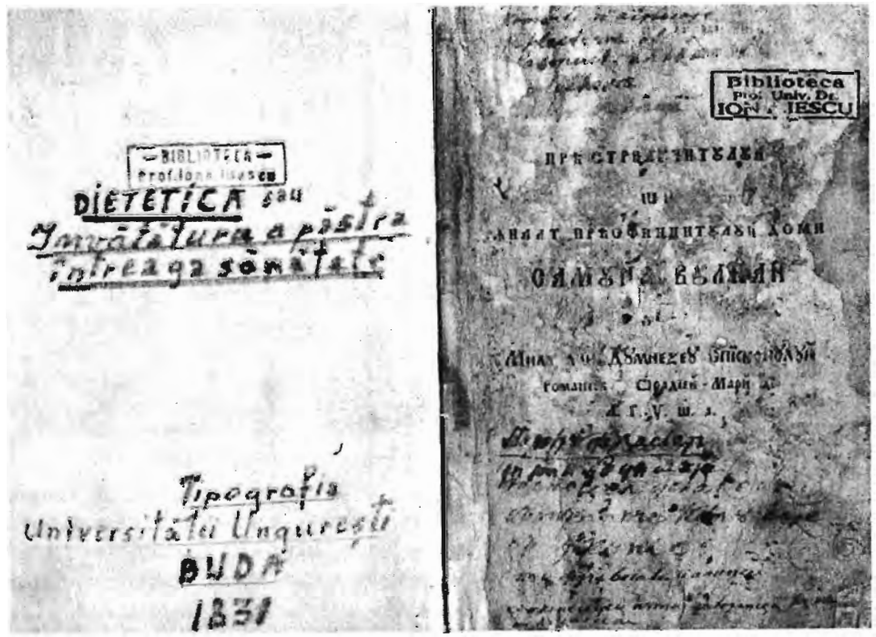


Fig. 1. Dietetica - P. Vasici, Pesta 1831

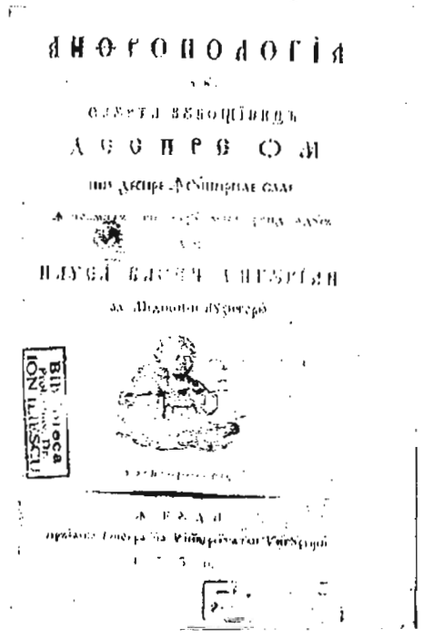


Fig. 2. Antropologia sau scurtă cunoştinţă despre om - P. Vasici, Pesta 1830

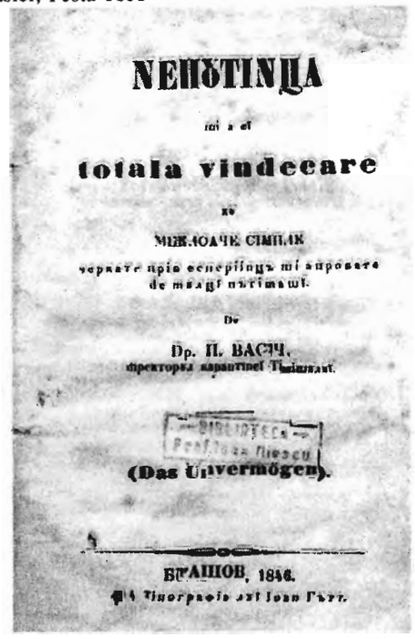


Fig. 3. Neputinţa... - P. Vasici, Braşov 1846

de un şi jumătate la Timişoara, fiind apoi numit doctor de carantină la Răşava şi, în Ardeal-la Timiş. În această perioadă devine şi membru al Societăţii Medicilor şi Naturaliştilor din Iaşi, trecându-i-se titulatura de „director Instituti observationem contra peste".

A jucat un rol important la mişcarea de renaştere naţională a românilor din Ardeal. În anul 1860, în calitate de consilier c.r. pentru instrucţia publică în şcolile greco-ortodoxe din Transilvania, P. Vasici a luat parte la dezbaterile comisiunii filologice transilvane în vederea adoptării ortografiei necesare la tipărirea cărţilor şcolare române - cu litere latine - şi pentru introducerea limbii române în administraţie şi justiţie.

În 1844, tipăreşte la Braşov „Macrobiotica" traducere din Huefeland. Trebuie să menţionăm faptul că, încă de la începuturile sale, Societatea Medicilor şi Naturaliştilor din Iaşi abonase „Huefeland's Journal für prakt. Heilkunde" (4).

În anul 1846 tipăreşte la Braşov „Neputinta si a ei totala vindecare cu mijloace simple cercate prin esperiinta si aprobate de multi patimasi" (fig. 3).

La Timişoara au apărut :

1. „Catechismulu antropologicu" intocmitu pentru poporulu romnescu si scolele popularie elementari" - la tipografia Enestu Steger, 1870 (fig. 4).

2. „Catechismulu sanatatii (Igiena Dietetica) intocmitu pentru poporulu romanescu si scolele populare elementari" - Ernestu Steger, 1870 (fig. 5).

3. „Difteria (Diphteritis) si vindecarea ei naturala" - tipografia Diecezei Cenadului.

Între anii 1876 şi 1879, Pavel Vasici a întemeiat periodicul medical: „Higiena si

CATECHISMULU

ANTROPOLOGICU

întocmitu

pentru

poporulu romanescu

si

(scolele elementarie)

de

PAVELU VASICIU,

Dr. de Medicina si Chirurgia, Magistru de obstetricia, Consiliariu de scole regescu in pensiune si activu comisariale etc.

TIMISIÓRA.

1870.

Fig. 4. Catehismul antropologic – P. Vasici, Timişoara 1870

CATECHISMULU

sanetatii

(Igiena'a Dietetic'a)

întocmitu

pentru

poporulu romanescu

si

scolele popularie elementari

de

PAVELU VASICIU,

Dr. de Medicina si Chirurgia Magistru de obstetricia, Consiliariu de scole regescu in Pensiune si activu comisariale etc.

Biblioteca
Prof. Univ. Dr.
ION ILIESCU

TIMISIORA.

1870.

Fig. 5. Catehismul sănătăţii – P. Vasici, Timişoara 1870

Fig. 6. Universitatea de Medicină şi Farmacie „Victor Babeş" Timişoara

Scola" tipărit iniţial la Gherla şi apoi la Timişoara. La 2 iulie este ales membru al Academiei Române. Discursul său de recepţie este intitulat „Despre vegetarianismu" şi a fost tipărit în „Analele Academiei Române" Seria II, Tom II, Secţ. II.-1880. Moare la Timişoara în anul 1881.

După Marea Unire relaţiile dintre medicii bănăţeni şi cei moldoveni devin fireşti şi fără alte oprelişti. Întrucât, cea mai numeroasă minoritate etnică din Banat era formată de germani, nu este de mirare faptul că aceştia se orientau pentru studiile medicale la Universităţile din Germania (Heidelberg, Hamburg) dar şi în Austria la Insbruck, Graz şi Viena. Dintre medicii români care au absolvit în Vechiul Regat şi s-au stabilit în Banat, cei mai numeroşi s-au format la Universitatea de Medicină din Iaşi, urmaţi apoi de cei de la Bucureşti. În al doilea deceniu s-a observat o sporire a medicilor formaţi la Cluj. Aceste afirmaţii se pot verifica prin consultarea anuarelor medicilor din România (1943-1947).

După terminarea celui de al doilea război mondial, prin Decretul-Lege Nr. 660 din 30 decembrie 1944, regele Mihai, hotărăşte înfiinţarea Universităţii de Vest, cu sediul la Timişoara. Prin Decretul-Lege din 4 mai 1945 se hotărăşte înfiinţarea Facultăţii de Medicină de la Timişoara (fig. 6).

În martie 1946, Ministrul Educaţiei Naţionale numeşte, sub preşedenţia Academician Profesor Dr. C. I Parhon, o comisie formată din: profesor Dr. Daniel Danielopol, profesor Dr. Grigore T. Popa (Bucureşti); profesor Dr. Alex Ţupa, profesor Dr. Alex Moruzi (Iaşi) şi profesor Dr. Iuliu Moldovan şi profesor Dr. Ion Goia (Cluj) (10).

Comisia a recomandat numirea primilor profesori şi conferenţiari titulari: profesor Dr. Şerban Brătianu la Histologie, profesor Dr. Emil Hurmuzache la Pediatrie, profesor Dr. Gheorghe Lupaşcu la Parazitologie (10, 11). În anii şi deceniile următoare se adaugă o întreagă pleiadă de străluciţi dascăli şi/sau clinicieni, cum au fost : profesor Dr. Dumitru Popescu (19.10.1907-19.1989†); profesor Dr. I.I. Nubert (22.09.1920-22.08.1990); conferenţiar Dr. Alexandru Lambescu (decedat în 1970) - Obstetrică ginecologie (11); conferenţiar R. Grigore Nubert - Radiologie; profesor Dr. V. T. Buşilă (1949-1975 †) - Boli Infecţioase; profesor Dr. Louis Ţurcanu (1919-1990) - Pediatrie şi, în fine, profesor Dr. Constantin Zosin (1914-1994) - Nefrologie, profesor Dr. Paula Zosin (n.1916) - Medicină Internă şi conferenţiar Dr. Maria W. Zalman – Bacteriologie (11).

BIBLIOGRAFIE

1. Bogdan-Duică GH. Eftimie Murgu. *Studii şi cercetări XXXI*, 1937.
2. Eftimie MU. *Scrieri*. ediţie îngrijită, cu o introducere şi note de ID Suciu. Bucureşti: Editura pentru Literatură, 1969, 18.
3. Gomoiu V. *Din istoria medicinei şi a învăţământului medical în România (înainte de 1870)*. Bucureşti: Tipografia „Cultura", 1923.
4. Crăinicianu Gh. *Literatura medicală românească: Biografii şi bibliografie*. Bucureşti: Ediţiunea Academiei Române, 1907.
5. Bogdan NA. *Societatea Medico-Naturalistică şi Muzeul Istorico-Natural din Iaşi 1830-1919*. Iaşi: Tipografia Naţională, 1919, nr.II, 41.
6. Eftimie MU. *Curs de filosofie ţinut la Academia Mihăileană (1834-1835,1835-1836)*. ediţie îngrijită şi studiu introductiv de V Ţîrcovnicu. Timişoara: Editura „Facla", 1986, 17.
7. *** Arhivele Naţionale ale României, Direcţia judeţeană Iaşi, Dos.309, MA II, nr II, vol 16 - Registru de membrii ai societăţii, întocmit cronologic - nr. crt 309.
8. *** Arhivele Naţionale ale României, Direcţia Judeţeană Iaşi, Dos. 309, MA II, vol 16 - Registru de membrii ai societăţii întocmit cronologic - nr. crt. 368.
9. Feier VI. *O perspectivă dermatologică asupra istoriei medicinei din Timişoara*. Simpozionul regional cu participare internaţională Timişoara, 2003.
10. Ancuşa MI. *Universitatea de Medicină şi Farmacie Timişoara de la înfiinţare până în pragul anului 2000*. Timişoara: Editura Brumar, 2000.
11. *** *Universitatea de Medicină şi Farmacie din Timişoara 1945-1995*. Timişoara: Litografia UMF, 1995.

NOUTĂŢI

EFECTELE BENEFICE ALE CONSUMULUI DE CEAI ASUPRA DMO (DENSITĂŢII MINERALE OSOASE) LA FEMEILE VÂRSTNICE

Un studiu clinic cu durata de 5 ani a urmarit rolul suplimentelor orale de calciu în prevenirea fracturilor osteoporotice. Studiul a inclus 1500 paciente cu vârste cuprinse între 70 şi 85 ani. Au fost comparate datele DMO la nivelul femurului (absortiometrie duala cu raze X) obtinute la inceputul (în primul an) şi la sfârşitul studiului (dupa 5 ani). Analiza chestionarelor completate de 164 femei a fost necesară pentru a evalua relaţia dintre consumul de ceai şi modificarile DMO în primul şi ultimul an al trialului. S-a constatat ca media DMO total este cu 2,8% mai mare la persoanele ce au consumat ceai comparativ cu restul lotului. În perioada cât a durat trialul consumatoarele de ceai au pierdut în medie 1,6% din DMO total în comparaţie cu 4% (ne-consumatori de ceai). Relaţia consum de ceai/DMO nu a fost influenţată de administrarea de calciu sau de consumul de cafea, activitatea fizică sau fumat. Deşi nu au fost raportate diferenţe semnificative între valorile DMO la nivelul colului femural sau a regiunii intertrohanteriene, autorii sugerează că, la femeile vârstnice, consumului de ceai ar putea avea o influenţă pozitivă asupra conservării structurii osoase (Devine A, Hodgson JM, Dick IM, Prince RL. Tea drinking is associated with benefits on bone density in older women. *Am J Clin Nutr* 2007; 86 (4): 1243-1247).

Beatrice Mihaela Gurzu

INSTRUCŢIUNI PENTRU AUTORI

Revista Medico-Chirurgicală a Societăţii de Medici şi Naturalişti din Iaşi publică articole originale (de cercetare fundamentală şi clinică), articole tip trecere în revistă (review) şi actualităţi (update), articole tip prezentare de caz, note clinice şi experimentale, recenzii, articole tip scrisoare către editor, informări asupra unor reuniuni ştiinţifice etc. în domeniul medicinii şi în domeniile conexe. Nu sunt acceptate materiale publicate sau în curs de publicare în alte reviste, cu excepţia lucrărilor publicate în rezumat.

Pentru **articolele originale** conţinutul trebuie structurat în următoarele secţiuni: INTRODUCERE, MATERIAL ŞI METODĂ, REZULTATE, DISCUŢII, CONCLUZII, MULŢUMIRI, BIBLIOGRAFIE.

Secţiunea Introducere (i) oferă suportul de informaţii care susţine, în baza literaturii de specialitate, subiectul vizat şi (ii) indică scopul pentru care a fost realizată cercetarea, subliniind elementele de noutate prin care se individualizează aceasta.

Secţiunea Material şi metodă include date precise, reproductibile şi verificabile, asupra materialul studiat, elementelor testate şi criteriilor de evaluare.

Secţiunea Rezultate prezintă, concis, datele obţinute (inclusiv sub formă de tabel sau figuri). În raport de scopul urmărit, acolo unde este cazul, rezultatele sunt validate printr-o prelucrare statistică adecvată. Textul acestei secţiuni va fi scris utilizând timpul trecut.

Secţiunea Discuţii urmăreşte interpretarea rezultatelor obţinute în cercetarea realizată, semnificaţia lor ştiinţifică fiind analizată în raport cu lucrările altor autori dedicate aceluiaşi subiect şi raportate în fluxul principal de publicaţii.

Secţiunea Concluzii subliniază aportul adus de cercetare în progresul cunoştinţelor în domeniu.

Secţiunea Mulţumiri include numele unor instituţii, organizaţii sau persoale care au contribuit decisiv în realizarea studiului.

Articole tip **trecere în revistă** (review) şi **actualităţi** (update) asupra unor subiecte de interes sunt în principal solicitate de editori, fiind însă luate în considerare, în sistem de peer-review, şi cele primite de la autori.

Pentru articolele tip **prezentare de caz**, conţinutul trebuie structurat în următoarele secţiuni: INTRODUCERE, PREZENTAREA CAZULUI, DISCUŢII.

PREGĂTIREA MANUSCRISULUI

Pregătirea manuscrisului se va face în conformitate cu instrucţiunile publicate în: Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals (1994) *Lancet* 1996; 348; V2; 1-4.

Textul va fi scris cu fonturi Times New Roman 12 pts. Revista foloseşte ortografia cu *â* şi *sunt*. Numerotarea paginilor se face în partea din dreapta jos.

Abrevierile nu trebuie utilizate excesiv şi trebuie explicate la prima apariţie în text.

Materialele nu vor depăşi: articole originale - 6 pagini/2500 cuvinte; articole tip trecere în revistă (review) şi actualităţi (update) - 8 pagini/3500 cuvinte; articole tip prezentare de caz - 4 pagini/1700 cuvinte; note clinice şi experimentale - 3 pagini/1300 cuvinte; recenzii, articole tip scrisoare către editor, informări asupra unor reuniuni ştiinţifice - o pagină/450 cuvinte. Revista îşi rezervă dreptul unor modificări impuse de tehnoredactare şi aranjare în pagină.

Manuscrisele respinse, ca urmare a deficienţelor de conţinut, nu se returnează.

Titlul şi autorii

Titlul trebuie să fie cât mai scurt şi elocvent pentru conţinutul manuscrisului. Titlul se va scrie cu litere de rând. Numele autorilor vor fi scrise cu litere de rând, prenumele precedând numele, pentru autori prescurtat, pentru autoare întreg. Afilierea va cuprinde instituţia (Universitate şi Facultate/Spital) şi compartimentul (Departament/Disciplină/Secţie) pentru fiecare autor. Autorii sunt obligaţi să menţioneze autorul desemnat pentru corespondenţă, cu datele de contact (e-mail şi telefon).

Rezumatul

Rezumatul va conţine:	**Recomandări speciale**
* Obiectivele clare ale studiului	* Extrageţi elementele principale din fiecare etapă a studiului pentru a fi expuse cât mai concentrat
* Descrierea materialului şi metodelor utilizate (concis şi clar)	În rezumat **NU** vor fi incluse:
* Rezultatele obţinute (cele mai importante, exprimate, dacă este posibil, numeric şi evaluate statistic)	* tabele, figuri sau note bibliografice * informaţii care nu sunt prezentate în studiu
* Concluziile cele mai importante şi semnificaţia lor ştiinţifică	* mai mult de 200 de cuvinte

Întrucât rezumatele în limba engleză au o circulaţie internaţională, redactarea lor trebuie să fie conform normelor internaţionale. Rezumatul va fi precedat de titlul articolului, tradus în limba engleză, scris cu majuscule, urmat de cuvântul (Abstract), conform următorului model:

NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS IN COLAGEN DISEASES (Abstract) : Colagen disease are ... (urmează textul scris în continuare, fără aliniate). La sfârşitul rezumatului în limba engleză se vor menţiona obligatoriu, cu majuscule, cuvintele-cheie (3 până la 5), în conformitate cu INDEX MEDICUS şi MEDLINE.

Subtitlurile din cuprinsul articolului trebuie scrise cu litere capitale.

Figurile şi tabelele trebuie inserate echilibrat în text. Fiecare figură sau tabel trebuie să fie însoţite de titlu şi legendă.

Figurile, numerotate cu cifre arabe, vor avea o lăţime de 6,5 cm (pentru a se încadra pe o coloană) sau de 13,5 cm (pentru a se încadra pe ambele coloane) şi vor fi menţionate în text în paranteză cu caractere drepte (fig. 1). Figurile trebuie să îndeplinească următoarele condiţii :

- fotografii scanate la o rezoluţie de minim 300 dpi şi prelucrate ulterior pe calculator, fişier original (*.TIFF, *.JPG) ;
- imagini (desene, grafice) realizate pe calculator, menţionate în text, fişier original (*.XLS, *.CDR).

Titlul şi legenda figurilor vor fi scrise conform modelului :

Fig. 2. Rezultatele clonării moleculare

Tabelele, numerotate cu cifre romane, menţionate în text în paranteze (tab. III), vor fi inserate în text şi vor avea o lăţime de 6,5 cm sau de 13,5 cm, fără să depăşească lăţimea unei pagini. Titlul tabelului va fi poziţionat deasupra tabelului conform modelului :

TABELUL III

Date analitice comparative

Bibliografia

Referinţele bibliografice trebuie numerotate cu cifre arabe *în ordinea apariţiei în text (deci nu în ordine alfabetică)*. Bibliografia va fi plasată la sfârşitul articolului şi va cuprinde numai referinţele citate în text (prin menţionarea în paranteză a numărului referinţei). Abrevierea titlurilor revistelor se va face conform Index Medicus.

Dacă un articol are maximum 6 autori vor fi transcrise toate numele. În cazul în care sunt 7 sau mai mulţi autori, se vor menţiona doar numele primilor 3 autori la care se adaugă abrevierea et al.

Sunt acceptate următoarele forme de scriere a bibliografiei :

Articole din reviste :

Amura SG. Neurotransmitter transportor : recent progress. *Ann Rev Neurosci* 1993 ; 16 : 73-93.

Tonis PJ, von Sandick JW, Nieweg OE et al. The hidden sentinel node in breast cancer. *Eur J Nucl Med* 2002 ; 29 : 305-311.

Cărţi :

Titlul unei cărţi :

Ashcroft FM. *Ion Channels and Disease*. San Diego, London : Academic Press, 2000.

Capitol dintr-o carte :

Pandiom MR, Fischer DA. Immunoradiometric assays. In : Scabes CG editor. *Handbook of Endocrine Research Techniques*. New York, London : Academic Press, 1993, 26-52.

Pentru alte situaţii se va consulta site-ul : www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

TRIMIREA MANUSCRISULUI

Manuscrisele, în dublu exemplar, tipărite pe foi A4, pe o singură faţă cu lăţimea paginii de 13,5 cm, vor fi depuse la Redacţia Revistei Medico-Chirurgicale sau trimise prin poştă pe adresa Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi, însoţite de formatul electronic, pe disketă sau CD-Rom, menţionându-se procesorul de text folosit (de preferinţă Word). Pentru trimiterea electronică se poate folosi şi adresa de e-mail :

rev_med_chir@yahoo.com

COPYRIGHT

Acceptarea articolului pentru publicare implică asumarea transferului dreptului de proprietate intelectuală al autorilor asupra revistei. Formularul pentru copyright va fi semnat de autorul desemnat pentru corespondenţă.

ÎN ATENŢIA AUTORILOR

Deoarece este necesară contribuţia materială a autorilor la cheltuielile de editare şi tipărire ale Revistei Medico-Chirurgicale, începând cu numărul 1/2008 se impun următoarele condiţii :

1. Membrii cotizanţi ai Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi pot publica articole fără achitarea unei taxe.
2. Autorii care nu sunt membri cotizanţi ai Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi vor achita o taxă de 50 RON în contul RO72RNCB0175033604340001, chitanţa fiind prezentată odată cu depunerea articolului.

Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa" Iaşi